

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Professor Dr. med. O. P. Hornstein

VERGLEICHENDE
HISTOAUTHORADIOGRAPHISCHE UND
HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
AN LEUKOPLAKIEN DER
MENSCHLICHEN WANGENSCHLEIMHAUT

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Thomas Kirzinger
aus Amberg

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg

Direktor: Professor Dr. med. O. P. Hornstein

VERGLEICHENDE
HISTOAUTHORADIOGRAPHISCHE UND
HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
AN LEUKOPLAKIEN DER
MENSCHLICHEN WANGENSCHLEIMHAUT

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Thomas Kirzinger
aus Amberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. H. Schell

Korreferent: Prof. Dr. O.P. Hornstein

Tag der mündlichen Prüfung: 09.02.1981

Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche
Forschungsgemeinschaft (SFB 118, Teilprojekt C1)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546222_0062

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Die gesunde und die leukoplakisch veränderte Mundschleimhaut - Morphologie und Proliferationskinetik	4
1.1. Makroskopische und mikroskopische Morphologie	4
1.2. Leukoplakien der Mundschleimhaut - Definition des Begriffes und Klassifizierung der verschiedenen Formen .	5
1.3. Das klinische und histologische Bild der Leukoplakien	7
1.4. Proliferationskinetik	8
1.4.1. Grundsätzliches zum Proliferationsverhalten von Zellsystemen des Säugtierorganismus	8
1.4.2. Proliferation der gesunden Mundschleimhaut	9
1.4.3. Veränderte Proliferationskinetik beim tumorösen Wachstum	11
1.4.4. Histoautoradiographische Technik an menschlichen Epithelien	13
2. Fragestellung	16

	Seite
3. Material und Methodik	18
3.1. Grundsätzliches zur autoradiographi- schen Technik	18
3.2. Material und Verarbeitung	19
3.2.1. Material	19
3.2.2. In-vitro-Inkubation und Herstellung der Schnitte	20
3.2.3. Strippingtechnik	22
3.2.4. Mikroskopische Auswertung der Histo- autoradiogramme	22
3.2.5. Histologische Befundung	23
4. Ergebnisse	24
5. Diskussion	45
5.1. Vergleich der noxigenen Leukoplakien mit ihren gesunden Vergleichsbiopsien	46
5.2. Tabakrauchen als kausalgenetischer Faktor für die Leukoplakieentstehung	48
5.3. Einfluß des Alters auf die Prolife- ration	49
5.4. Geschlechtsspezifische Unterschiede in der Proliferation	49

5.5.	Veränderung der Proliferation in Beziehung zu den histologischen Strukturbildern	50
5.6.	Lichen planus mucosae	58
5.7.	Präkanzeröse Leukoplakien	58
5.8.	Zeitlicher Ablauf von Leukoplakieentstehung und -rückbildung	59
6.	Zusammenfassung	61
7.	Literaturverzeichnis	63

1. DIE GESUNDE UND DIE LEUKOPLAKISCH VERÄNDERTE MUNDSCHLEIMHAUT

- MORPHOLOGIE UND PROLIFERATIONSKINETIK

Die Mundhöhle des menschlichen Organismus ist, wie bei allen Säugetieren, Träger verschiedenartiger Funktionen. Wegen ihrer Aufgabe als Nahrungsaufnahme- und Zerkleinerungsorgan ist sie verschiedenen mechanischen, thermischen und chemischen Belastungen ausgesetzt. Ausdruck der Anpassung an diese Belastungen ist ihre Auskleidung mit der für die Mundhöhlenregion spezifischen Schleimhaut.

1.1. Makroskopische und mikroskopische Morphologie der Mundschleimhaut

Die gesunde Schleimhaut der Mundhöhle weist die charakteristischen Eigenschaften der echten Schleimhaut auf, nämlich Weichheit, leichte Verschieblichkeit gegen die Unterlage und Schleim- und Speichelbenetzung. Im allgemeinen ist sie unverhornt, mit Ausnahme einiger Bereiche physiologischer Verhornung wie die Gingivie und der harte Gaumen. Die Orale Schleimhaut läßt analog zur äußeren Haut eine Dreiteilung erkennen in Orales Epithel, Tunica Propria und Tunica Submucosa.

Im Oralen Epithel finden sich die von der Epidermis bekannten Schichten mit Ausnahme des Stratum lucidum:

- a) Das Stratum basale liegt als einschichtige Zelllage der Basalmembran auf. Die Zellen dieser Schicht sind klein ($d = 6 \mu m$) und regelmäßig zylindrisch geformt.
- b) Das Stratum spinosum umfaßt die darüberliegenden 4 - 8 Schichten, welche keinen Kontakt mit der Basalmembran mehr haben. Die Zellen dieser Schichten werden Stachelzellen genannt wegen der Zytoplasmafortsätze, die sie ihren Nachbarzellen entgegenstrecken. Sie sind etwas größer als die Basalzellen.

- c) Das Stratum granulosum (Körnerschicht) tritt nur in den wenigen verhornten Bereichen des Oraln Epithels auf, gebildet aus Zellen, welche sich durch Keratohyalin granula im Zytoplasma auszeichnen. Es umfaßt zwei oder mehr Zellagen.

1.2. Leukoplakien der Mundschleimhaut

Verschiedene Krankheiten können das Orale Epithel und die äußere Haut gleichermaßen erfassen. Beispiele sind der Lichen planus mucosae und die Schuppenflechte.

Dagegen hat das Krankheitsbild der Oraln Leukoplakie kein Äquivalent an der äußeren Haut; ja ihr klinisches und histologisches Bild entspricht geradezu einer Epidermisierung der Mundschleimhaut. In den letzten Jahren zeigte sich ein weltweites Interesse an den unter dem Begriff "Leukoplakie" zusammengefaßten Läsionen, die benigne und präkanzeröse Formen umfassen.

Der Begriff "Leukoplakia buccalis" wurde 1877 von dem ungarischen Dermatologen Ernő Schwimmer geprägt. Er wurde im Laufe der Zeit immer wieder unterschiedlich definiert. Vor zehn Jahren einigte man sich von Seiten der Weltgesundheitsorganisation auf eine einfache aber wenig präzise Definition, nach der als Leukoplakien alle weißen, nicht abwischbaren Bezirke der Mundschleimhaut, die keiner anderen Krankheit zugeordnet werden konnten, bezeichnet wurden. Diese Definition umfaßt vor allem Veränderungen exogen-irritativer Genese (noxigene Leukoplakien) einschließlich der primär oder sekundär präkanzerösen Formen. Das namenbildende Merkmal der weißen Farbe beruht auf der Änderung des optischen Brechungsindex durch abnorme Hydratation des von hyperkeratotischen Veränderungen vermehrt gebildeten Keratins (PAYNE 1975).

Ausgenommen von dieser Definition sind alle nosogenen Leukoplakien, also Leukoplakien, die auf eine Krankheit zurückzuführen sind, die sich fakultativ oder obligat an der Mundschleimhaut manifestiert, wie der Lichen planus mucosae.

Um diese Leukoplakieformen in eine umfassende Systematik mit einzubringen, wurde eine Einteilung in Leukoplakien im engeren Sinn, wie sie der WHO-Definition entsprechen, und in Leukoplakien im weiteren Sinn, welche auch die nosogenen Leukoplakien umfassen, vorgeschlagen (HORNSTEIN 1977).

Zu den nosogenen Leukoplakien gehören erbliche und endogen-irritative Formen. Eine erbliche Form der Leukoplakie ist zum Beispiel der weiße Schleimhautnaevus der Mundschleimhaut. Die endogene Irritation der anderen Formen ist vornehmlich entzündungsbedingt. Beispiele sind der Lichen planus mucosae, verschiedene Formen der Mykose und bestimmte Hypovitaminosen, die sich in der Mundhöhle manifestieren.

Die Leukoplakien exogen-irritativen Ursprungs, die der WHO-Definition entsprechen, werden auf verschiedenartige physikalische und chemische Noxen zurückgeführt (noxigene Leukoplakien). Hierunter fallen die mechanische Irritation durch schadhafte Zähne, schlecht sitzende Zahnprothesen oder habituelles Wangenkauen ebenso wie die Stomatitis elektrogalvanica, verursacht durch Potentialdifferenzen bei Zahnfüllungen aus verschiedenen Metallen. Wichtigste chemische Noxe ist der Tabak, der seine Wirkung auf die Mundschleimhaut beim Tabakrauchen wie auch beim Tabakkauen ausübt.

Eine Sonderstellung in diesem System haben die präkanzerösen Leukoplakien, die sich von ihrem klinischen Bild her nicht immer von den benignen Formen abgrenzen lassen. Sie können primär als Präkanzerosen auftreten oder aus noxigenen und nosogenen Formen entstehen (HORNSTEIN 1977 a).

1.3. Das klinische und histologische Bild der Leukoplakien

Der klinische Befund bei noxigenen Leukoplakien ist sehr variabel. Es besteht eine große Variationsbreite in Bezug auf Oberfläche, Farbe, Begrenzung und Ausdehnung. Hinzu kommt die Variabilität des Einzelfalles im Laufe der Zeit. Trotzdem ist auf Grund einiger Kriterien eine Einteilung in gewisse klinische Typen möglich. BANOCZY und SUGAR (1975) unterscheiden zwischen einfachen ("Leukoplakia simplex"), verrucösen ("Leukoplakia verrucosa") und erosiven ("Leukoplakia erosiva") Formen. Sie konnten bei den einfachen und verrucösen Formen in etwa 6 %, bei den erosiven Formen in fast 50 % einen Wechsel des klinischen Typs zu einer der jeweils anderen Formen während eines mittleren Beobachtungszeitraumes von 8,7 Jahren feststellen. PINDBORG und Mitarbeiter (1976), die zwischen "homogenem" und "gesprenkeltem" Typ unterscheiden, bemerkten beim gesprenkelten Typ, der mit dem erosiven der vorgenannten Autoren identisch ist, eine größere Tendenz zur malignen Umwandlung. Man muß also zwischen einerseits aktiven, proliferativen Formen mit hyperplastischer, höckeriger und ulcerierter Schleimhaut und andererseits passiven Formen mit glatter Schleimhaut unterscheiden. Nicht so schwierig ist die klinische Beurteilung der nosogenen Leukoplakien. Hier entspricht einer bestimmten Erkrankungsform der Mundschleimhaut meist ein charakteristisches klinisches Bild. So zeigt der Lichen planus mucosae im Mundhöhlenbereich eine typische netzartige Struktur, die dem homogenen Typ der nicht nosogenen Leukoplakien entspricht.

Den einzelnen klinischen Erscheinungsformen liegen verschiedenartige histologische Zustandsbilder zugrunde. Meist besteht eine aus Akanthose und Hyperkeratose resultierende Epithelhyperplasie. Die Hyperkeratose kann als Ortho-, Para und auch als gemischte Keratose in Erscheinung treten. Präkanzeröse Leukoplakien zeigen zusätzlich noch atrophisch und dysplastisch veränderte

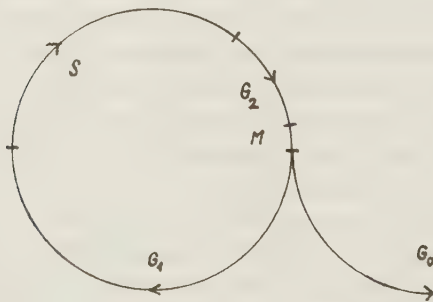
Epithelbezirke. Dysplastische Bereiche können folgende Merkmale aufweisen: Verlust der Polarität der Basalzellen, Vorhandensein von mehreren Zellschichten mit Zellen von basalartigem Erscheinungsbild, Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zum Kern hin, unregelmäßige Zellschichtung, Anstieg der Zahl von Mitosefiguren, Auftreten von Mitosefiguren in der oberflächlichen Hälfte des Epithels, Pleomorphismus der Zellen, Hyperchromasie der Kerne, Vergrößerung der Nucleoli, Auflockerung des Zellzusammenhangs und Keratinbildung in einzelnen Zellen oder Zellgruppen des Stratum spinosum (WORLD HEALTH ORGANISATION 1978). Fortgeschrittene Stadien von Dysplasie zeigen ein Bild, das allmählich in das des "Carcinoma in situ" übergeht, wo die Veränderungen die ganze Epithelbreite erfassen.

1.4. Proliferationskinetik

1.4.1. Grundsätzliches über das Proliferationsverhalten von Zellsystemen des Säugetierorganismus

Um über das Wachstumsverhalten eines Gewebssystems Aussagen machen zu können, ist es wichtig, Zellneubildung und Zellverlust zu quantifizieren.

Die Abschnitte, die jede Zelle einer Zellpopulation während ihres Lebenszyklus durchläuft, werden wie folgt bezeichnet (Abb. 1):



G_1 = postmitotisch-präsynthetische Periode

S = DNS-Syntheseperiode

G_2 = postsynthetisch-prämitotische Periode

M = Mitose.

Außer in diese Abschnitte kann eine Zelle vorübergehend in einen interzyklischen Zustand eintreten, in dem sie keinerlei Vorbereitungen für eine Zellteilung trifft (G_0 -Phase). Schließlich kann eine Zelle die Fähigkeit zur Zellteilung ganz verlieren und in die Differenzierung eintreten. Der Zellzyklus teilt also die Zellen einer Population grob in drei verschiedene Pools ein:

1. momentan proliferierender Pool (Zellen in G_1 , S, G_2 , M),
2. potentiell proliferierender Pool (Zellen in G_0),
3. nicht mehr proliferierender Pool (Zellen in Differenzierung).

Die beiden ersten Pools bilden das Kompartiment für die Zellneubildung. Die Proliferation kann grundsätzlich auf drei Arten gesteigert werden (RAJEWSKY 1966):

1. Verkürzung der Zykluszeit (T_c),
2. Vergrößerung des momentan proliferierenden Pools zu Lasten des potentiell proliferierenden,
3. Verminderung der Zellverluste.

1.4.2. Proliferation der gesunden Mundschleimhaut

Die vorliegende Arbeit soll aufklären helfen, welche Veränderungen des Proliferationsverhaltens den histologischen Bildern von leukoplakischen Erscheinungen zu Grunde liegen. Ich möchte an dieser Stelle eine kurze Erläuterung der Proliferation der gesunden Mundschleimhaut vorausschicken.

Das mehrschichtige Plattenepithel der Mundhöhle gehört zu den Wechselgeweben, in denen ein lebhafter Zellumsatz stattfindet. Der an der Epitheloberfläche durch Zellabschilferung dauernd stattfindende Zellverlust wird durch die Zellneubildung in den der Basalmembran naheliegenden Schichten ausgeglichen. Durch die Ausstülpungen der Basalmembran in Form von Reteleisten steht der

Epitheloberfläche eine größere Unterfläche gegenüber. Nur dadurch können relativ wenige proliferierende Zellen an der Basalmembran den Zellnachschub garantieren. Die DNS-Synthese erfolgt bei der Mundschleimhaut des Menschen in der basalen und den 2-3 darüberliegenden Schichten. Die Zellen dieser drei Schichten bilden das Kompartiment für die Zellneubildung (= Stratum germinativum) (MAIDHOF et al. 1977, WALKER et al. 1974, GILLESPIE 1969). Von den als Indifferenzzone bezeichneten basalen Zellagen erfolgt ein unaufhörlicher Abstrom von Zellen, die nach ihrer Differenzierung an der Schleimhautoberfläche abgestoßen werden. Mit dem Austritt aus der Indifferenzzone setzt die Differenzierung ein. Nach den Ergebnissen von ROLSHOVEN (1951) kann man die Zellteilung in der Indifferenzzone von Wechselgeweben als inäquale Teilung verstehen. Es entstehen bei der Mitose zwei in ihrer prospektiven Potenz unterschiedliche Zellen, von denen eine an ihrem Platz verbleibt, die andere aber in höhere Schichten abgedrängt wird. Dieser Vorgang wurde von OEHLERT (1966, 1970) an der Schweinehaut und verschiedenen mehrschichtigen Plattenepithelbezirken der Maus, der Ratte und des Hamsters nachgewiesen.

Für die Steuerung der Zellneubildung entwickelte IVERSEN (1961) eine Arbeitshypothese, nach der angenommen wurde, daß von den differenzierten Zellen des Stratum spinosum Hemmstoffe an die Zellen der Indifferenzzone abgegeben werden, die den Eintritt in die Mitose behindern.

Diese Vorstellung der innergeweblichen Steuerung der Proliferation wurde durch den experimentellen Nachweis dieser Hemmstoffe (BULLOUGH 1964) verifiziert. Sie wurden als Chalone (G_1 -Inhibitor, G_2 -Inhibitor) bezeichnet. Es konnte somit die Richtigkeit älterer Anschauungen bewiesen werden, nach denen die Zellbildung im menschlichen Epithel durch einen innergeweblichen Regulationsmechanismus gesteuert wird, dessen Wirksamkeit auf einem Feedback-Mechanismus zwischen differenzierten und undifferenzierten Zellen beruht.

1.4.3. Veränderte Proliferationskinetik beim tumorösen Wachstum unter Berücksichtigung der bisherigen Befunde bei Leukoplakien der Mundschleimhaut

Daß der Tumorbildung eine gegenüber dem normalen Wachstum veränderte Proliferation zu Grunde liegt, ist evident. Da hier die Zellneubildung den Zellverlust überproportional übersteigt liegt ein exponentielles Wachstum vor. Quantitativ formuliert haben dies FABRICANT und Mitarbeiter (1969, 1969 a).

An Mammatumoren konnte das tumoröse Wachstum auf eine Vergrößerung des proliferierenden Teils der Zellpopulation (siehe 1.4.1.), der auch als Growth-fraction bezeichnet werden kann, gleichzeitig mit einer Verkürzung der Zykluszeit (T_c) zurückgeführt werden. Dagegen war bei einer hormonell bedingten Proliferationssteigerung nur die Zyklusdauer verkürzt (BRESCIANI 1965). Bei der Betrachtung der Leukoplakien mit ihren verschiedenartigen klinischen und histologischen Erscheinungsbildern fragt man sich, welche Veränderungen der Proliferation hier zu Grunde liegen. Hinweise auf Veränderungen finden sich in einer Untersuchung von OEHLERT (1970), in der festgestellt wird, daß im Vergleich zum gesunden Epithel am experimentell kanzerisierten insofern ein veränderter Teilungsmechanismus vorliegt, als im Stratum basale eine horizontale Teilungsrichtung bevorzugt wird. Bei der gleichzeitigen gesteigerten Zellneubildung führt dies zu einer hochgradigen Vermehrung der Basalzellen. Daraus resultiert eine Vergrößerung der Auflagefläche des Epithels auf dem subepithelialen Bindegewebe. Das klinische Bild, das sich aus diesen Veränderungen entwickelte war zunächst die Hyperplasie, dann die papillomatöse Auffaltung. In einer anderen Arbeit wird beschrieben, wie durch lokale Behandlung des Mundhöhlenepithels mit zytostatischen Substanzen die mitotische Aktivität im Stratum basale unterdrückt werden kann

(VAN SCOTT 1965). Auf diese Weise wird eine verlangsamte Zellabwanderung zur Gewebsoberfläche hin bewirkt. Nach dem Proliferationssteuerungsmodell von BULLOUGH (1964) werden in diesem Falle aus den verlangsamt abwandernden und sich deshalb verstärkt differenzierenden Zellen in erhöhtem Maße Mitosehemmsubstanzen (Chalone) an die proliferierenden Schichten abgegeben und somit die Zellneubildung gehemmt. Wirklich konnte nach dieser Behandlung die Bildung von Hartkeratin und darauf die Ausbildung einer umschriebenen Leukoplakie nachgewiesen werden. Auch MEYER und Mitarbeiter (1967) zeigten, daß bei Leukoplakien die Zunahme der Hornschicht mit einer Abnahme der mitotischen Aktivität kombiniert ist. Außerdem beeinflußt der Verhornungstyp von Leukoplakien die Proliferation: in Untersuchungen von RENSTRUP (1963) zeigte sich, daß hyperparakeratotische Leukoplakien gegenüber hyperorthokeratotischen durch eine viermal höhere mitotische Aktivität gekennzeichnet waren. MAIDHOF und Mitarbeiter (1977) betrachteten in einer Untersuchung an exogen-irritativen Leukoplakien die proliferative Aktivität der Basalschicht und der suprabasalen Schichten getrennt. Sie fanden in einem Kollektiv von 18 Leukoplakien dieses Typs zwar keine Veränderung der gesamten Proliferationsrate, wohl aber einen Anstieg der Zahl der proliferierenden Zellen in der Basalschicht und einen Abfall in den darüberliegenden Schichten. Dieses Phänomen deuteten sie als Ausdruck der Verlagerung des epithelialen Keratinisierungsbeginns in das untere Stratum spinosum, wobei sich die proliferative Aktivität auf das Stratum basale beschränkt. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß den einzelnen Leukoplakieformen verschiedene Möglichkeiten von Proliferationsstörungen zu Grunde liegen. Diese darzustellen ist eine Aufgabe, die noch für die Zukunft aussteht. Die vorliegende Untersuchung soll bei ihrer Lösung mit-helfen.

1.4.4. Historiographische Technik an menschlichen Epithelien

An Stelle der früher häufig angewandten Techniken des Mitoseaufsuchens und der Colchizinapplikation tritt heute die Darstellung proliferativer Vorgänge mit Hilfe der autoradiographischen Technik. Isotopenmarkiertes Thymidin wird von der Epithelzelle bei der DNS-Synthese mit verwendet. Es wirkt dort als Beta-Strahler. Dies wird zur Darstellung der strahlenden Zellen mittels einer photographischen Schicht genutzt (genauere Darstellung der Technik der Histoautoradiographie in Kapitel 3.1). Die histoautoradiographische Technik dient also zur spezifischen Markierung der in der DNS-Synthesephase befindlichen Zellen eines Gewebes. Mit ihrer Hilfe konnten in letzter Zeit große Fortschritte bei der Beobachtung der Proliferation von normalen und malignen Geweben erzielt werden. Wie in Kapitel 1.4.1. dargestellt, teilt der Zellzyklus die Zellen eines Gewebes grob in drei Kompartimente ein. Die Zellen in der DNS-Synthesephase stellen eine Untergruppe des Kompartiments der momentan proliferierenden Zellen (Zellen in G_1 , S, G_2 , M) dar. Da alle Zellen, die sich in der S-Phase befinden, mit 3H -Thymidin markiert werden, stellt ihre Zahl, bezogen auf die Gesamtzahl der zur Teilung befähigten Zellen einen verwertbaren Indikator für die Beurteilung der Proliferation eines Gewebes dar. Wie oben angeführt, spielen sich die Zellteilungen im Epithel der menschlichen Mundschleimhaut vornehmlich in der Basalschicht und in den drei darüberliegenden Zellagen ab (GILLESPIE 1969, WALKER und DOLBY 1974, MAIDHOF et al. 1977).

Zur quantitativen Erfassung der Proliferation von Epithelien dient der 3H -Index (Markierungsindex, Labelling-Index), der das prozentuale Verhältnis der markierten

Basalzellen zur Gesamtzahl der Basalzellen eines Geweabschnittes angibt. Dieser ist mehrfach am Epithel der menschlichen Mundschleimhaut bestimmt worden (GILLESPIE 1969, KAIDBEY und KURBAN 1971, TOLLER 1975, WALKER und DOLBY 1974, ERHARD 1975). Für die Beurteilung der Proliferation mit Hilfe dieses Index müssen jedoch die Voraussetzungen der Konstanz der S-Phasenlänge und der Asynchronität der Zellteilungen in der beobachteten Zellpopulation erfüllt sein (KARRING 1973). Studien über die S-Phasendauer lieferten unterschiedliche Ergebnisse. Einzelne Autoren (Literatur bei KARRING 1973) berichten über eine Beeinflussung der S-Phasendauer bei Epithelzellen durch Karzinogene oder Hormone bzw. durch das Alter der beobachteten Individuen. Auch tageszeitliche Schwankungen in der S-Phasendauer wurden festgestellt (PILGRIM et al. 1963). Zudem fand man unterschiedliche Mitosehäufigkeiten zu verschiedenen Tageszeiten (KIRSCHNER 1968, SCHELL et al. 1974). Diese Fehlerquelle der Methode kann jedoch, wie bei den experimentellen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit dadurch umgangen werden, daß man die Markierungen jeweils zur selben Tageszeit vornimmt. Gegenüber der Mitosenzählung bietet die Histoautoradiographie wegen der längeren Dauer der DNS-Synthesephase (etwa 7,5 Stunden, BASERGA 1965) im Vergleich zur Mitosephase (40 - 70 Minuten, KIRSCHNER 1968) den Vorteil der ungleich größeren Häufigkeit isotopenmarkierter Zellen gegenüber Zellen in Mitose. Man nimmt mit ihr jedoch den Nachteil des größeren Anwendungsfehlers in Kauf. Die zur histoautoradiographischen Technik notwendige bioptische Entnahme von Gewebsmaterial stellt eine Gewebsverletzung dar, die mit Reparaturvorgängen beantwortet wird. Diese Reparaturvorgänge können vor allem an den Randbereichen der Biopsien unkalkulierbare Veränderungen der Proliferation zur Folge haben. Wegen der geringen Eindringtiefe des Inkubationsmediums in die Gewebelöcke (siehe Kapitel 3.2.4.) ist man jedoch gerade auf

die Beurteilung der Randpartien angewiesen.

Im Gegensatz zur früher häufig angewandten Methode der Colchizinanwendung läßt die Histoautoradiographie den Zellzyklus unbehindert weiterlaufen.

^3H -Thymidin-markierte Zellen können bei genügend langer Inkubation noch lange nach ihrer Teilung bei der Differenzierung und Wanderung durch die einzelnen Epithelschichten beobachtet werden (FABRICANT et al. 1969). Trotz der oben angeführten unkalkulierbaren Einflüsse betrachteten wir den ^3H -Index als quantitativen Ausdruck der Proliferation des Oralen Epithels. Durch die Wahl anderer Parameter (siehe Kapitel 3.2.4.) suchten wir Aussagen zu machen über die Lage des proliferierenden Kompartiments und die Zellteilungsrate des Gewebes.

2. FRAGESTELLUNG

Bei unserer Untersuchung hatten wir die Möglichkeit gesundes und leukoplakisch veränderten Biopsiematerial der menschlichen Wangenschleimhaut zu vergleichen. Es lagen uns in der Mehrzahl Fälle von noxigenen Leukoplakien vor, aber auch einige Fälle von Lichen planus der Mundschleimhaut (nosogene Leukoplakien).

Im einzelnen erschien uns die Beantwortung folgender Fragen wichtig:

1. Ergeben sich Unterschiede in der histoautoradiographischen Markierung zwischen gesunder und leukoplakischer Mucosa?
2. Ergibt sich insbesondere eine vertikale Verschiebung der Proliferation bei leukoplakisch veränderter Mucosa in die Basal- bzw. Suprabasalschicht?
3. Wie verhalten sich speziell die von Rauchern entnommenen Schleimhautbiopsien in Bezug auf die Fragestellungen 1. und 2.?
4. Ergeben sich Beziehungen zwischen der histoautoradiographischen Markierung an gesunder und leukoplakisch veränderter Mucosa und dem Alter des Patienten?
5. Verhalten sich die von Frauen bzw. von Männern entnommenen Leukoplakiebiopsien hinsichtlich der Fragestellung 1. unterschiedlich?
6. Ergeben sich Beziehungen zwischen der histoautoradiographischen Markierung und histopathologischen Strukturen wie Orthohyperkeratose, Parahyperkeratose, Hyperplasie, Atrophie und Entzündungsgrad des angrenzenden Bindegewebes in der leukoplakisch veränderten Mucosa?
7. Unterscheiden sich die untersuchten nosogenen Leukoplakien (Lichen planus mucosae) von den untersuchten noxigenen Leukoplakien in ihrer histoautoradiographischen Markierung?

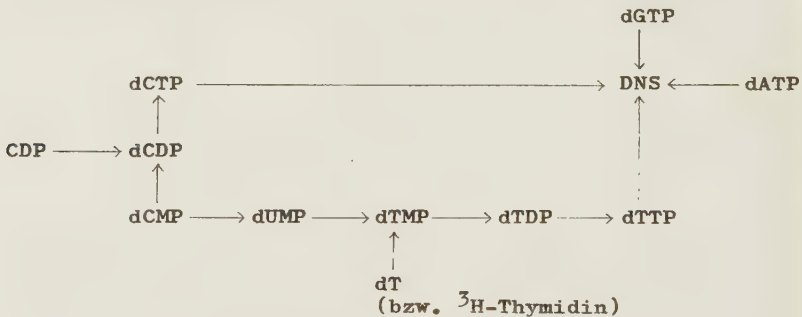
8. Sind die untersuchten präkanzerösen Leukoplakien in ihrer histoautoradiographischen Markierung auffällig gegenüber den benignen Leukoplakien?

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. Grundsätzliches zur histoautoradiographischen Technik

Die autoradiographische Markierung von Gewebsbiopsien beruht auf der Möglichkeit radioaktive Vorstufen der DNS während der DNS-Synthesephase in den Zellstoffwechsel einzuschleusen und photographisch auf dem Gewebsschnitt sichtbar zu machen. Zur Aufrechterhaltung der natürlichen Stoffwechselvorgänge in den Gewebsbiopsien werden diese inkubiert (Technik siehe 3.2.2.).

In Untersuchungen der DNS-Synthese an Rattenzellen mit ^{15}N -Thymidin haben REICHARD und EASTBORNE (1951) erstmals festgestellt, daß Thymidin ein spezifischer Vorläufer der DNS-Synthese ist. Thymidin wird nur in sehr geringem Umfang in andere Bausteine der Zelle als DNS eingebaut. Die einzelnen Syntheseschritte des DNS-Polymers und der Nucleotide sind in folgendem Schema dargestellt:



CMP = Cythidinmonophosphat

CDP = Cythidindiphosphat

CTP = Cythidintriphosphat

TMP = Thymidinmonophosphat

TDP = Thymidindiphosphat

TTP = Thymidintriphosphat

UMP = Uridinmonophosphat

GTP = Guanosintriphosphat

ATP = Adenosintriphosphat

T = Thymidin

d = Desoxy-

modifiziert nach SCHULTZE 1968

An Stelle des Eintritts von Thymidin in die Metabolitenkette ist die Möglichkeit der exogenen Einschleusung von radioaktivem ^3H -Thymidin in den Desoxyribonukleinsäurestoffwechsel der Zelle gegeben. Da bei der Inkubation das isotoopenmarkierte Nukleotid im Überschuß angeboten wird, wird das von der Zelle gebildete Thymidin praktisch vollständig ersetzt. Es wird also eine vollständige und spezifische Markierung aller Zellen, die sich in der DNS-Synthesephase befinden, erreicht.

Das bei der histoautoradiographischen Technik verwendete ^3H -Isotop ist ein reiner Betastrahler mit einer Halbwertszeit von 12,26 Jahren. Beim Durchgang der ausgesandten Elektronen durch die Gelatineschicht des photographischen Films kommt es zur Ionisation von Silberbromidkristallen, die in die Gelatineschicht eingelagert sind. Diese Ionisation führt zum latenten photographischen Bild, das durch Entwicklung und Fixierung des Films in das sichtbare umgewandelt wird. Für die autoradiographische Technik sind besonders hochauflösende Spezialemulsionen mit geringer Korngröße entwickelt worden.

3.2. Material und Verarbeitung

3.2.1. Material

Wir führten die Untersuchungen an Biopsiematerial durch, das zum Teil in der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten in der Zeit von September 1974 bis August 1975, zum Teil in der Dermatologischen Universitätsklinik Erlangen in der Zeit von Dezember 1976 bis Januar 1977 entnommen wurde. Die Entnahme und Weiterverarbeitung erfolgte in den beiden Kliniken unter gleichen Bedingungen. Es stammt von 30 Patienten (14 Frauen, 16 Männer) mit leukoplakischen Mundschleimhautveränderungen.

Diese Veränderungen wurden in drei Gruppen eingeteilt, nämlich in

1. benigne noxigene Leukoplakien (exogen-irritativer Genese)
18 Fälle, davon 6 Frauen, 12 Männer;
2. benigne nosogene Leukoplakien (Lichen planus mucosae)
9 Fälle, davon 8 Frauen, 1 Mann;
3. präkanzeröse Leukoplakien
3 Fälle, davon 0 Frauen, 3 Männer.

Die Altersverteilung (Durchschnittsalter 47 Jahre) ist aus den Tabellen Nr. 1, Nr. 5 und Nr. 6 ersichtlich. Die entnommenen Biopsien entstammen in allen Fällen der Wangenregion. In 16 Fällen wurde zusätzlich klinisch gesunde normale Schleimhaut entnommen und zwar in 7 Fällen von der kontralateralen Seite der Mundhöhle. Bei 9 Patienten, die eine kontralaterale Zweitbiopsie verweigerten, wurde die normale Schleimhaut 1 - 2 cm vom makroskopischen Leukoplakiebezirk entfernt entnommen. Parallel zur histoautoradiographischen Aufarbeitung wurden von jeder Biopsie mehrere Schnitte zur konventionellen histologischen Begutachtung mit Haematoxylin-Eosin angefärbt.

3.2.2. In-vitro-Inkubation und Herstellung der Schnitte

Bei der Entnahme der Biopsien wurde darauf geachtet, daß als Entnahmezeitpunkt einheitlich die Zeit zwischen 10 und 12 Uhr vormittags eingehalten wurde, was in Hinblick auf eine mögliche cirkadiane Rhythmik der Schleimhautproliferation von Bedeutung sein kann. Nach der Entnahme wurden die Biopsien halbiert und im ^3H -Thymidin-haltigen Nährmedium inkubiert. Die Inkubation erfolgte mit einem Spezialapparat der Firma Hartenstein (Würzburg, BRD), dessen Funktion im folgenden kurz erläutert werden soll.

Unter einem Neigungswinkel von 30° tauchen 6 Reagenzgläser, die das Nährmedium mit dem Biopsiematerial enthalten, in ein Wasserbad. Mit den offenen Enden sind die Reagenzgläser auf Gummipfröpfe gesteckt, die an einer Achse befestigt sind. Diese Achse wird durch einen Elektromotor mit stufenlos regulierbarer Geschwindigkeit bewegt. Zur Temperatureinstellung dient ein Thermostat mit einem Rührgerät. Für die genaue Temperaturkontrolle wurde ein Basaltemperaturthermometer verwendet. Als Inkubationsmedium diente Mc-Coy-Medium ohne Glutamin. In ein Reagenzglas wurden jeweils 5 ml Inkubationsmedium und $2, \mu\text{Ci/ml}$ ^3H -Thymidin (Hersteller Schwarz BioResearch, Inc., Orangeburg, New York, spez. Aktivität 6 Ci/mMol) gefüllt und mit Carbogen (95 % O_2 , 5 % CO_2) überschichtet.

30 - 60 Minuten vor Inkubationsbeginn gaben wir die so vorbereiteten Reagenzgläser in das auf 37° erwärmte Wasserbad. Unmittelbar vor der Inkubation des Gewebes erfolgte eine zweite Überschichtung des Nährmediums mit Carbogen, da der pH-Wert des Nährmediums vom CO_2 -Partialdruck der Umgebung abhängig ist. Die Gewebstücke, von denen sich jedes in einem eigenen Reagenzglas befand, wurden 30 Minuten lang inkubiert. Dabei wurden die Gläser 20 Mal pro Minute um ihre eigene Achse gedreht. Danach wurden die Präparate in eine Austauschlösung mit inaktivem Thymidin (0,5 g Thymidin pro 1000 ml Aqua dest.) getaucht, um das nicht in den Nukleotidstoffwechsel eingeschleuste ^3H -Thymidin auszuwaschen. Die Fixierung der Excisate in neutralem Formalin beendete die Inkubation. Nach Durchlaufen einer aufsteigenden Alkoholreihe wurden die Gewebeproben im Vakuum in Paraffin eingebettet. Möglichst senkrecht zur Oberfläche wurden dann $5, \mu\text{m}$ dicke Serienschnitte hergestellt und auf mit Chromalaunchelatine überschichtete Objektträger aufgezogen.

3.2.3. Strippingtechnik

Der verwendete Strippingfilm Kodak AR-10 (Kodak Ltd. London) hat eine 5 μm dicke Emulsion und eine 10 μm dicke Gelatineschicht. Er wurde bei Rotlicht in der Dunkelkammer auf die Objektträger mit den Präparaten aufgezogen. 18 Tage wurde er in der Dunkelkammer der Strahlung des Isotops ausgesetzt und anschließend entwickelt und fixiert.

3.2.4. Mikroskopische Auswertung der Histoautoradiogramme

Die histoautoradiographischen Schnitte wurden bei 500-facher Vergrößerung (Zeiss Mikroskop Universal) über ein Mikroprojektionsgerät auf Papier projiziert und abgezeichnet.

Für die Auswertung wurden nur Schnitte der Gewebstiefe 50 bis 100 μm berücksichtigt. Von diesen Schnitten wurde nur der 100 μm breite Randbereich verwertet, da wegen der Diffusionsverhältnisse bei atmosphärischem Sauerstoffpartialdruck nur bis in diese Tiefe eine sichere Markierung erwartet werden kann (RAJEWSKY 1965, WRBA et al. 1966, SCHMID et al. 1974).

Als markiert wurde ein Kern angesehen, wenn er mindestens vier Silberkörner über der Schnittfläche aufwies. Wir werteten nur jeden dritten Schnitt einer Serie, um nicht wegen der geringen Schnittdicke manche Kerne doppelt zu zählen.

Folgende zellkinetischen Parameter wurden an der leukoplakischen und an der gesunden Wangenmucosa bestimmt:

1. ^3H -Index der Basalzellschicht (LI) = Prozentsatz der markierten Basalzellen, bestimmt an mindestens 1000 Basalzellen.
2. Anzahl der markierten Suprabasalzellen (mSBZ) pro 100 Basalzellen.

3. Gesamtzahl der markierten Zellkerne (mZ) pro 100 μ m Basalmembranlänge.

3.2.5. Histologische Befundung

Die Präparate wurden zunächst herkömmlich histologisch befundet. Zudem wurden alle Präparate nach folgenden histologischen Merkmalen beurteilt:

1. Orthohyperkeratose (O)
2. Parahyperkeratose (P)
3. Hyperplasie (H)
4. Atrophie (A)
5. Entzündungsgrad des angrenzenden Bindegewebes in drei Intensitätsstufen.

Für die histologische Befundung wurden die Präparate der leukoplakisch veränderten und die Vergleichspräparate der klinisch gesunden Mucosa herangezogen. Bei der Berücksichtigung der histologischen Merkmale verzichteten wir auf jegliche Intensitätsgrade.

Die so erhaltenen Werte wurden mit den Ergebnissen aus der Dissertationsarbeit von Herrn PRANTL (Erlangen 1977) zusammengefaßt. Diese Ergebnisse stammen aus der selben Versuchsreihe. Die zu Grunde liegenden Biopsien sind also unter den selben Bedingungen entnommen und weiterverarbeitet worden. Es handelt sich um Material von 7 weiblichen und 14 männlichen Patienten mit traumatisch-irritativen Leukoplakien. In 18 dieser Fälle lag paariges Biopsiematerial vor; es konnte also Material von der gesunden Schleimhaut zum Vergleich herangezogen werden (5 mal kontralateral, 13 mal homolateral).

Die zusammengefaßten Werte wurden statistisch nach der Regressionsanalyse und nach den Wilcoxon-Test für gepaarte Meßwerte bzw. für den Vergleich zweier unabhängiger Stichproben ausgewertet.

4. ERGEBNISSE

- 4.1. Die erste Fragestellung befaßte sich mit Unterschieden zellkinetischer Parameter zwischen gesunder und leukoplakisch veränderter Mucosa. Dazu stand uns ein Kollektiv von 29 Patienten mit noxigenen Leukoplakien zur Verfügung (Tabelle Nr. 2).

Wir bestimmten den Markierungsindex der Basalzellen ($LI = mBZ/100 BZ$), die markierten Suprabasalzellen pro 100 Basalzellen ($mSBZ/100 BZ$) und die Gesamtzahl markierter Zellen pro 100 μm Basalmembranlänge ($mZ/100 \mu m$).

a) Markierungsindex der Basalzellen (LI):

Die Schwankungsbreiten der Werte der markierten Basalzellen in der klinisch normalen Mucosa und in der leukoplakisch veränderten Mucosa sind etwa gleich:

Normal: 1,85 - 18,35; $\bar{x} = 7,21$.

Leukoplakien: 4,60 - 22,07; $\bar{x} = 7,96$.

Der Mittelwert ($\bar{x}$) liegt in den Leukoplakien geringgradig höher als in der gesunden Mucosa. Die Unterschiede sind statistisch auffällig ($\alpha \leq 0,05$). In Abbildung Nr. 1 links (S.43) sind die Paardifferenzwerte zwischen den Leukoplakien und den autologen gesunden Schleimhautarealen bezüglich des Basalzellmarkierungsindex aufgetragen ($\Delta LI = LI\text{-Leukoplakie} - LI\text{-normal}$).

b) $mSBZ/100 BZ$:

Die Schwankungsbreite dieses Indices bei der klinisch normalen Mucosa und bei den Leukoplakien war etwa gleich groß:

Normal: 3,32 - 27,4; $\bar{x} = 12,04$.

Leukoplakien: 1,17 - 21,1; $\bar{x} = 10,50$.

Der Mittelwert liegt bei den Leukoplakien niedriger als bei den gesunden Schleimhautbiopsien. Die statistische Auswertung ergab keine signifikanten Unterschiede. Die Paardifferenzwerte dieses Indices zwischen Leukoplakie

und autologem gesunden Schleimhautareal sind in Abbildung Nr. 1 rechts (S. 43) aufgetragen (Δ mSBZ).

c) mZ/100 μ m:

Die Schwankungsbreite der Werte unterscheidet sich nicht wesentlich. Der Mittelwert liegt bei den gesunden Schleimhautbiopsien höher als bei den Leukoplakien.

Normal: 1,12 - 5,96; $\bar{x}$ = 3,17.

Leukoplakien: 0,79 - 5,54; $\bar{x}$ = 3,00.

Statistisch ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

4.2. Zur Darstellung einer möglichen Verschiebung der Proliferation in die Basalschicht bestimmten wir das Verhältnis markierter Basalzellen zu markierten Suprabasalzellen (mBZ/mSBZ). Hier ergeben sich Unterschiede zwischen gesunder und leukoplakischer Schleimhaut. Obwohl die Schwankungsbreiten auch hier erheblich sind, findet man bei den Leukoplakien einen erheblich höheren Wert.

Normal: 0,20 - 2,05; $\bar{x}$ = 0,72.

Leukoplakien: 0,38 - 4,92; $\bar{x}$ = 1,06.

Die Unterschiede sind statistisch auffällig (Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5 %).

4.3. Das Kollektiv der Raucher wurde im Hinblick auf die mögliche kausalgenetische Funktion für die Leukoplakieentstehung gesondert betrachtet (Tab. Nr. 4). Es umfaßt 16 Patienten aus dem Hauptkollektiv. Der Mittelwert der Markierungsindices der Basalzellen liegt mit 8,25 höher als im Gesamtkollektiv (7,96); dies läßt auf eine geringgradig höhere Proliferationsrate in der Basalzellschicht schließen. Die anderen Indices unterscheiden sich jedoch nicht wesentlich von denen im Gesamtkollektiv. Betrachtet man in dieser Gruppe die gesunden Vergleichsbiopsien, so lassen sich dieselben Unterschiede zu den Leukoplakien wie im Gesamtkollektiv beobachten: leichte Erhöhung des

Markierungsindices der Basalzellen bei einem Mittelwert von 7,89 im Gegensatz zu 7,21 im Gesamtkollektiv. Die anderen Indices zeigen auch hier keine wesentlich veränderten Werte. Dies läßt sich gut mit der Tatsache in Einklang bringen, daß der Paarvergleich Leukoplakie/Vergleichsbiopsie, der im Raucherkollektiv wie in der ersten Fragestellung für das Gesamtkollektiv angestellt wurde, für keinen der bestimmten Indices einen statistisch signifikanten Unterschied erbrachte.

- 4.4. Beziehungen zwischen den autoradiographischen Meßwerten und dem Alter der Patienten können, wie die in Tabelle Nr. 2 aufgelisteten Werte zeigen, weder für die Leukoplakien, noch für die Vergleichsbiopsien hergestellt werden.
- 4.5. Trennt man das oben betrachtete Kollektiv in Männer und Frauen und sucht nach Unterschieden der autoradiographischen Werte zwischen gesunder und leukoplakischer Schleimhaut, so lassen sich Unterschiede nur im Kollektiv der Frauen für den Basalzellmarkierungsindex nachweisen ($\alpha \leq 0,05$):
- Normal: 1,85 - 15,16; $\bar{x} = 5,91$.
- Leukoplakien: 4,98 - 11,75; $\bar{x} = 7,79$.
- Der Mittelwert bei den Leukoplakien liegt ebenso wie im Gesamtkollektiv höher als bei den gesunden Schleimhautbiopsien (7,79 im Vergleich zu 5,91).
- 4.6. Am wichtigsten erschien uns die Frage, ob sich zwischen den ermittelten autoradiographischen Meßwerten und gewissen bei Leukoplakien in unterschiedlicher Häufigkeit vorkommenden histologischen Merkmalen Beziehungen herstellen lassen. Diese Merkmale sind Orthohyperkeratose (O), Parahyperkeratose (P), Hyperplasie (H), Atrophie (A)

und der Grad der entzündlichen Infiltration im angrenzenden Bindegewebe. Sie wurden wie bei ROED-PETERSEN et al. (1973) unter Verzicht auf alle Intensitätsgrade definiert. Lediglich bei der Beurteilung des entzündlichen Infiltrats wurden die Symbole + (= 20 Zellen pro Flächenquadrat $75 \times 75 \mu\text{m}$), ++ (21 bis 30 Zellen) und +++ ($\geq$ 30 Zellen) eingeführt. Für die statistische Auswertung wurde jedoch nur berücksichtigt, ob entzündliche Infiltration nachgewiesen werden konnte oder nicht.

Bei den 29 untersuchten Leukoplakien exogen-irritativer Genese wurde am häufigsten das Merkmal Parahyperkeratose (20 x), dann das Merkmal Orthohyperkeratose (18 x), dann das Merkmal Hyperplasie (17 x) und am wenigsten häufig das Merkmal Atrophie (8 x) gefunden. 13 Mal traten die Merkmale Parahyperkeratose und Hyperplasie kombiniert auf (Tabelle Nr. 1).

Entzündliche Infiltrate traten in unterschiedlicher Ausprägung insgesamt in 22 der untersuchten Leukoplakien auf. Es ließ sich keine überzufällig häufige Kombination mit einem der histologischen Merkmale des Epithels finden. Um Beziehungen zwischen den autoradiographischen Werten und obigen Merkmalen herauszukristallisieren, bildeten wir jeweils Gruppen aus Präparaten, in denen das betreffende Merkmal aufgetreten war. Wir bestimmten die Mittelwerte der zugehörigen proliferationskinetischen Parameter und verglichen sie mit denen der übrigen Präparate (Tabelle Nr. 8).

Zuerst wurde das Merkmal Orthohyperkeratose betrachtet. Dieses Merkmal fanden wir in 18 von 29 Fällen. Der Vergleich dieser beiden Gruppen zeigt jedoch keine statistisch verifizierbaren Unterschiede in den autoradiographischen Meßwerten. Der Vergleich der Markierungsindices der Basalzellen läßt Unterschiede lediglich vermuten. Der Mittelwert in der Gruppe der Orthohyperkeratosen liegt bei 7,73 im Vergleich zu 8,31 im übrigen Kollektiv. Dieser Unterschied läßt sich wegen der großen

Streubreite der Werte nicht statistisch verifizieren. Die anderen ermittelten Werte zeigen keine Unterschiede, einschließlich des Index $mBZ/mSBZ$, der eine eventuelle vertikale Verschiebung des Proliferationsgeschehens in die Basalschicht darstellen sollte.

Ergebnisse zeigte die Betrachtung des Merkmals Parahyperkeratose. Bei den 20 Fällen, in denen dieses Merkmal auftrat, zeigte sich ein erheblich höherer Mittelwert der Markierungsindices der Basalzellen als im Restkollektiv ($n = 9$), nämlich 8,9 im Vergleich zu 5,81. Die Statistik (T-Test) ergibt einen Unterschied mit einer maximalen Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %. Auch der Index $mZ/100 \mu m$ zeigte bei den Parahyperkeratosen höhere Mittelwerte (3,16 im Vergleich zu 2,65). Beim Verhältnis $mBZ/mSBZ$ unterscheiden sich die Mittelwerte beider Gruppen nicht.

In der Gruppe der Hyperplasien, die 17 der untersuchten Leukoplakien umfaßt, zeigt sich, daß der Mittelwert der Markierungsindices der Basalzellen niedriger lag als im Restkollektiv, nämlich 7,4 im Vergleich zu 8,74. Dasselbe Verhältnis zeigte sich bei der Zahl der markierten Zellen pro $100 \mu m$ Basalmembranlänge. Die Werte lagen bei 2,8 und 3,2. Dies zeigt eine allgemeine Erniedrigung der Proliferationsrate bei den hyperplastischen Leukoplakien gegenüber dem Restkollektiv.

Die Gruppe der Atrophien umfaßt nur 8 Fälle. In dieser Gruppe zeigten sich jedoch auffällige Unterschiede gegenüber dem Restkollektiv ($n = 21$). Der Mittelwert der Markierungsindices der Basalzellen zeigte hier einen höheren Wert (9,12) als das Restkollektiv (7,5). Beim Index $mSBZ/100 BZ$ zeichnet sich eine Erniedrigung gegenüber dem Restkollektiv ab: 8,60 gegenüber 11,22 als Mittelwerte. Der Faktor $mZ/100 \mu m$ unterscheidet sich nicht wesentlich. Auffällige Unterschiede zeigen sich wiederum im Index $mBZ/mSBZ$. Hier ergibt sich bei den Atrophien ein deutlicher Anstieg des Mittelwerts gegenüber dem Restkollektiv (1,72 gegenüber 0,83). Diese Erhöhung deutet in Übereinstimmung

mit den anderen Indices auf eine Verschiebung des proliferativen Geschehens in die Basalzellschicht hin.

Zweiundzwanzig der untersuchten Leukoplakien zeigten entzündliche Infiltrate unterschiedlicher Ausprägung. Bei diesen finden wir jedoch im Vergleich zu den nicht entzündlich veränderten keine wesentlich anderen autoradiographischen Werte. Der Mittelwert der Markierungsindices der Basalzellen unterscheidet sich praktisch überhaupt nicht: 7,92 bzw. 8,09. Allerdings scheint sich eine geringe Zunahme der Suprabasalzellen abzuzeichnen. Der Mittelwert der Indices mSBZ/100 BZ lag bei 11,09 im Gegensatz zu 8,62 bei 7 nicht entzündlich veränderten Leukoplakien. Die Gesamtzahl der markierten Zellen bezogen auf die Länge der Basalmembran liegt im Mittel etwas höher, nämlich bei 3,09 im Vergleich zu 2,72 pro 100 μ m Basalmembran. Die höhere Zahl der markierten Suprabasalzellen hat eine Erniedrigung des Index mBZ/mSBZ gegenüber dem Restkollektiv zur Folge (Mittelwerte 1,02 und 1,27). Es lassen sich jedoch auch hier wegen der erheblichen Schwankungsbreiten keine eindeutigen Schlüsse ziehen.

4.7. Die untersuchten Leukoplakien vom Typ des Lichen planus mucosae, es waren insgesamt neun, zeichnen sich in ihren Meßwerten durch besonders große Schwankungen aus. Der Markierungsindex der Basalzellen bewegt sich in den Grenzen von 0,32 bis 22,96. Ähnlich große Schwankungen lassen sich auch bei den anderen Indices beobachten (siehe Tabelle Nr. 5).

Bei den 5 Leukoplakien dieses Typs, für die gesundes Vergleichsmaterial vorlag, konnte wegen der geringen Fallzahl kein sinnvoller Paarvergleich krank/gesund vorgenommen werden. Der Mittelwert der Basalzellmarkierungsindices liegt bei den Leukoplakien bei 7,64, bei den Vergleichsbiopsien bei 10,8.

4.8. Die drei untersuchten Leukoplakien von histologisch verifizierten präkanzerösen Charakter waren alle von Patienten männlichen Geschlechts und höheren Alters (Tabelle Nr. 6). Die dysplastischen Veränderungen waren unterschiedlich ausgeprägt (Dysplasiegrad 1 + bis 3). Vergleichsbiopsien aus der gesunden Mundschleimhaut lagen nicht vor. Der Mittelwert der Markierungsindices der Basalzellen liegt mit 7,21 innerhalb des Normbereichs der untersuchten exogen-irritativen Leukoplakien. Der Mittelwert der markierten Suprabasalzellen pro 100 Basalzellen lag mit 4,24 weit unterhalb des für die nicht präkanzerösen Leukoplakien berechneten Wertes. Dementsprechend erhöhte sich der Quotient $mBZ/mSBZ$ bei einem Wert von 1,67 gegenüber dem Wert bei den anderen Leukoplakien. Es scheint sich also hier um eine Verschiebung der Proliferation in die Basalzellschicht zu handeln. Von den untersuchten Merkmalen lag in allen drei Fällen das Merkmal Parahyperkeratose und das Merkmal Orthohyperkeratose und in zwei der Fälle zusätzlich das Merkmal Orthohyperkeratose und in zwei der Fälle lag zusätzlich das Merkmal Atrophie vor. Es waren also in zwei präkanzerösen Leukoplakien gleichzeitig hyperplastische und atrophische Bezirke nachweisbar.

Tabelle Nr. 1

Histologische Merkmale der untersuchten
noxigenen Leukoplakien (exogen-irritativer
Genese)

	Pat. Nr.	Alter	O	P	H	A	Entzündungs- grad
Frauen	43	22	+	-	-	-	++
	110	23	-	+	+	-	+
	137	26	+	+	-	+	+++
	127	29	-	+	+	-	+
	101	30	-	+	+	-	
	39	37	-	+	+	-	+
	W11	40	-	+	+	+	++
	148	51	+	+	-	-	+
	89	61	+	-	+	-	++
	171	64	-	+	+	-	+
	W12	65	+	-	-	+	+++
Männer	69	27	+	+	-	-	+
	95	29	-	+	+	-	+++
	140	34	+	+	+	-	++
	124	39	+	+	-	+	+
	45	40	+	-	+	-	
	146	41	+	+	+	-	
	83	43	-	+	+	-	+
	W 3	44	+	+	-	+	+
	64	45	+	-	+	+	+
	132	47	-	+	+	-	
	60	48	+	+	-	-	+
	66	50	+	-	+	-	+
	168	51	+	-	-	-	+++
	163	56	-	+	+	-	

Fortsetzung

Fortsetzung Tabelle Nr. 1

Pat. Nr.	Alter	O	P	H	A	Entzündungs- grad
104	56	-	+	+	-	
78	60	+	-	-	-	++
154	63	+	+	-	+	+++
74	66	+	-	-	+	

O = Orthohyperkeratose, P = Parahyperkeratose, H = Hyperplasie,
A = Atrophie

Tabelle Nr. 2

Autoradiographische Meßwerte der untersuchten
noxigenen Leukoplakien und der gesunden Ver-
gleichsbiopsien

(Leukoplakien im engen Sinn)

	Pat. Nr.	Alter	LI		mSBZ		mZ/100 / μ m	
			L	N	L	N	L	N
Frauen	43	22	6,14	5,47	7,10	7,10	1,76	1,73
	110	23	10,07	4,70	16,70	9,60	4,50	2,24
	137	26	7,76	4,86	10,10	5,80	2,51	1,65
	127	29	5,22	3,90	7,80	7,00	2,16	1,91
	101	30	6,16	1,85	4,26	3,32	2,04	1,12
	39	37	4,98	7,59	14,00	14,80	3,16	3,74
	W11	40	11,75	6,25	4,20	14,29	2,47	2,99
	148	51	14,94	15,16	19,06	9,52	5,54	4,28
	89	61	5,23	4,70	12,90	16,50	2,96	3,33
	171	64	7,71	6,18	10,16	15,86	3,00	4,70
	W12	65	5,76	4,45	1,17	11,19	0,98	2,83
Männer	69	27	9,06	6,20	9,20	9,40	2,68	2,35
	95	29	5,90	6,40	7,50	8,50	2,28	3,65
	140	34	8,47	7,00	19,50	15,60	4,38	3,95
	124	39	9,82	10,16	4,75	10,54	2,28	3,07
	45	40	6,11	3,75	9,30	11,20	2,36	2,57
	146	41	4,70	11,42	1,57	7,19	0,96	2,47
	83	43	6,90	5,15	9,50	13,40	2,63	2,57
	W 3	44	17,96	9,76	11,19	7,35	4,56	2,04
	64	45	4,78	6,00	11,30	11,30	2,91	2,56
	132	47	2,44	13,26	2,07	8,30	0,79	3,36
	60	48	5,62	6,23	13,70	21,00	3,24	4,29
	66	50	5,22	4,51	10,90	13,30	2,32	2,78
	168	51	8,10	6,08	21,10	27,40	5,29	5,96
	163	56	8,22	12,81	17,02	7,80	4,31	3,26

Fortsetzung

Fortsetzung Tabelle Nr. 2

Pat. Nr.	Alter	LI		mSBZ		mZ/100 /um	
		L	N	L	N	L	N
104	56	22,07	18,35	14,34	8,97	5,42	4,19
78	60	4,60	4,15	8,00	21,10	2,09	4,44
154	63	8,20	6,09	14,30	15,90	4,28	3,99
74	66	6,90	6,70	11,80	16,10	3,15	3,94

LI = Labellingindex, Markierungsindex der Basalzellen
mSBZ = markierte Suprabasalzellen pro 1000 Basalzellen
mZ/100 /um = Gesamtzahl markierter Zellen pro 100 /um Basalmembranlänge
L = leukoplakische Schleimhaut
N = normale Schleimhaut

Tabelle Nr. 2a Histologische Merkmale und autoradiographische Parameter der noxigenen Leukoplakien ohne gesunde Vergleichsbiopsien

Pat. Nr.	Alter	Histol. Parameter				LI	mSBZ	mZ/100 /um
		O	P	H	A			
36	30	+	+	+	-	7,10	11,09	3,10
53	32	+	+	+	-	14,45	12,54	3,65
47	33	-	+	+	-	6,31	8,29	2,45
30	35	+	+	+	-	6,03	1,77	1,20
117	38	+	+	+	-	5,33	10,45	2,10
115	57	-	+	+	-	10,58	5,66	2,18
150	68	+	+	-	+	6,41	4,25	2,07

Tabelle Nr. 3

Verhältnis $\frac{\text{markierte Basalzellen}}{\text{markierte Suprabasalzellen}}$ bei den
 untersuchten Leukoplakien und den gesunden Vergleichsbiopsien und Differenz der Zahl an Suprabasalzellen zwischen Leukoplakien und gesunder Schleimhaut (noxigene Leukoplakien)

	Pat. Nr.	Alter	$\frac{\text{mBZ}}{\text{mSBZ}}$		$\frac{\text{mSBZ}}{100 \text{ BZ}}$
			L	N	$\Delta (N - L)$
Frauen	43	22	0,86	0,77	+ 0,0
	110	23	0,60	0,49	- 7,10
	137	26	0,77	0,84	- 4,30
	127	29	0,67	0,56	- 0,80
	101	30	1,45	0,56	- 0,94
	39	37	0,36	0,51	+ 0,80
	W11	40	2,80	0,44	+ 10,00
	148	51	0,79	1,59	- 9,54
	89	61	0,41	0,28	+ 3,60
	171	64	0,76	0,39	+ 5,70
W12	65	4,92	0,40	+ 10,02	
Männer	69	27	0,98	0,66	+ 0,20
	95	29	0,79	0,75	+ 1,00
	140	34	0,43	0,49	- 3,90
	124	39	2,07	0,96	+ 5,79
	45	40	0,66	0,33	+ 1,90
	146	41	2,99	1,59	+ 5,62
	83	43	0,73	0,38	+ 3,90
	W 3	44	1,60	1,33	- 3,84
	64	45	0,42	0,53	+ 0
	132	47	1,18	1,60	+ 6,23
	60	48	0,41	0,30	+ 7,30
	66	50	0,48	0,34	+ 2,40
	168	51	0,38	0,22	+ 6,30
	163	56	0,48	1,43	- 9,22

Fortsetzung

Fortsetzung Tabelle Nr. 3

Pat.	Alter	$\frac{mBZ}{mSBZ}$		$\frac{mSBZ}{100 \text{ BZ}}$
		L	N	
				$\Delta(N - L)$
104	56	1,54	2,05	- 5,37
78	60	0,58	0,20	+ 13,10
154	63	0,57	0,38	+ 1,60
74	66	0,58	0,42	+ 4,30

$\frac{mBZ}{mSBZ}$ = Verhältnis markierte Basalzellen zu markierte Supra-basalzellen

$\Delta(N - L)$ = Differenz der Werte zwischen gesunder und leukoplakischer Schleimhaut

sonstige Zeichen siehe Tabelle Nr. 2.

Tabelle Nr. 4

Histologische Merkmale und autoradiographische
Parameter der Leukoplakien von Rauchern

Pat. Nr.	Al- ter	Histol.Parameter				LI		mSBZ/100BZ		mZ/100 μ m	
		O	P	H	A	L	N	L	N	L	N
43	22	+	-	-	-	6,14	5,47	7,10	7,10	1,76	1,73
26	26	+	+	-	+	7,76	4,86	10,10	5,80	2,51	1,65
101	30	-	+	+	-	6,16	1,85	4,26	3,32	2,04	1,12
95	29	-	+	+	-	5,90	6,40	7,50	8,50	2,28	3,65
140	34	+	+	+	-	8,47	7,00	19,50	15,60	4,38	3,95
124	39	+	+	-	+	9,82	10,16	4,75	10,54	2,28	3,07
45	40	+	-	+	-	6,11	3,75	9,30	11,20	2,36	2,57
146	41	+	+	+	-	4,70	11,42	1,57	7,19	0,96	2,47
W 3	44	+	+	-	+	17,96	9,76	11,19	7,35	4,56	2,04
64	45	+	-	+	+	4,78	6,00	11,30	11,30	2,91	2,56
132	47	-	+	+	-	2,44	13,26	2,07	8,30	0,79	3,36
66	50	+	-	+	-	5,22	4,51	10,90	13,30	2,32	2,78
168	51	+	-	-	-	8,10	6,08	21,10	27,40	5,29	5,96
163	56	-	+	+	-	8,22	12,81	17,02	7,80	4,31	3,26
104	56	-	+	+	-	22,07	18,35	14,34	8,97	5,42	4,19
154	63	+	+	-	+	8,20	6,09	14,30	15,90	4,28	3,99

Tabelle Nr. 5

Autoradiographische Meßwerte der Leukoplakien vom Typ Lichen Planus Mucosae und der gesunden Vergleichsbiopsien⁺

Pat. Nr.	Alter	LI		mSBZ/100 BZ		mZ/100 / μ m	
		L	N ⁺	L	N ⁺	L	N ⁺
142	30	0,32		0,24		0,07	
82	34	0,57	15,81	1,14	10,60	0,26	3,23
32	44	9,88		4,08		1,89	
161	44	2,30	2,76	0,77	1,04	0,56	0,72
85	54	22,96	17,21	5,93	14,56	3,67	5,25
144	57	15,13	6,22	3,41	2,61	2,28	1,29
131	58	9,42	12,04	18,01	7,24	3,82	1,89
98	70	4,74		0,10		0,58	
W 1	81	3,45		8,99		2,26	

⁺ = soweit vorhanden

Tabelle Nr. 6

Histologische Befunde und autoradiographische Meßwerte der präkanzerösen Leukoplakien

Pat. Nr.	Al-ter	Dyspla-siegrad	Histol.Parameter				LI	mSBZ/100BZ	mZ/100/ μ m
			O	P	H	A			
9	71	3 ^x	-	+	+	+	5,78	4,12	1,07
166	71	2+	+	+	+	-	10,21	4,96	2,22
79	79	1+	+	+	+	+	5,63	3,64	1,26

^x = stellenweise incipientes Plattenepithelcarcinom

Tabelle Nr. 7

Zusammenfassung der Ergebnisse aus den
Tabellen Nr. 2 - 4

1. + 2. Mittelwerte und Standardabweichung der untersuchten
Parameter der noxigenen Leukoplakien und der gesunden
Vergleichsbiopsien (Tab. Nr. 2 und Nr. 3)

	Leukoplakien	gesunde Vergleichs- biopsien
LI	$7,96 \pm 4,19$	$7,21 \pm 3,77$
mSBZ/100 BZ	$10,50 \pm 5,33$	$12,04 \pm 5,28$
mZ/100 μ m	$3,00 \pm 1,30$	$3,17 \pm 1,07$
mBZ/mSBZ	$1,06 \pm 1,00$	$0,72 \pm 0,50$

3. Gegenüberstellung der Leukoplakien von Rauchern mit
dem Gesamtkollektiv der noxigenen Leukoplakien
(Tabellen Nr. 2 und Nr. 4)

	Raucher	Gesamtkollektiv
LI	$8,25 \pm 4,99$	$7,96 \pm 4,19$
mSBZ/100 BZ	$10,39 \pm 5,84$	$10,50 \pm 5,33$
mZ/100 μ m	$3,03 \pm 1,47$	$3,00 \pm 1,30$
mBZ/mSBZ	$1,04 \pm 1,02$	$1,06 \pm 1,00$

5. Gegenüberstellung von Leukoplakien und gesunden Ver-
gleichsbiopsien nach Geschlecht der Patienten getrennt
(Tabelle Nr. 2)

	Leukoplakien	gesunde Vergleichs- biopsien
Frauen: LI	$7,79 \pm 3,20$	$5,91 \pm 3,40$
mSBZ/100 BZ	$9,77 \pm 5,55$	$10,45 \pm 4,43$
mZ/100 μ m	$2,82 \pm 1,27$	$2,77 \pm 1,15$
mBZ/mSBZ	$1,31 \pm 1,37$	$0,62 \pm 0,36$

Fortsetzung

Fortsetzung Tabelle Nr. 7

Zu 5.

		Leukoplakien	gesunde Vergleichs- biopsien
Männer: LI		8,06 $\pm$ 4,78	8,00 $\pm$ 3,86
mSBZ/100 BZ		10,95 $\pm$ 5,30	13,01 $\pm$ 5,63
mZ/100 μ m		3,11 $\pm$ 1,34	3,41 $\pm$ 0,98
mBZ/mSBZ		0,92 $\pm$ 0,72	0,77 $\pm$ 0,57

Tabelle Nr. 8

Zuordnung der autoradiographischen Meßwerte
zu den einzelnen histologischen Merkmalen
(Tabellen Nr. 1 und Nr. 2):
Mittelwerte und Standardabweichungen

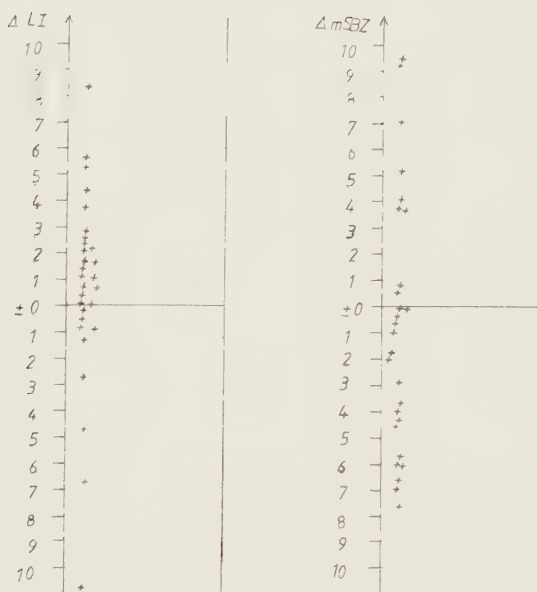
1. Parahyperkeratose	Merkmal vorhanden (+)	Merkmal nicht vorhanden (-)
Anzahl n	20	9
LI	8,90 $\pm$ 4,73	5,81 $\pm$ 1,11
mSBZ/100 BZ	10,55 $\pm$ 5,47	10,40 $\pm$ 5,32
mZ/100 μ m	3,16 $\pm$ 1,34	2,65 $\pm$ 1,20
mBZ/mSBZ	1,10 $\pm$ 0,76	1,03 $\pm$ 1,47
2. Orthohyperkeratose	+	-
n	18	11
LI	7,73 $\pm$ 3,58	8,31 $\pm$ 5,22
mSBZ/100 BZ	10,94 $\pm$ 5,52	9,77 $\pm$ 5,20
mZ/100 μ m	3,01 $\pm$ 1,33	2,98 $\pm$ 1,31
mBZ/mSBZ	1,11 $\pm$ 1,17	1,03 $\pm$ 0,70
3. Hyperplasie	+	-
n	17	12
LI	7,40 $\pm$ 4,38	8,73 $\pm$ 3,96
mSBZ/100 BZ	10,18 $\pm$ 5,26	10,96 $\pm$ 5,64
mZ/100 μ m	2,86 $\pm$ 1,22	3,20 $\pm$ 1,44
mBZ/mSBZ	0,98 $\pm$ 0,80	0,85 $\pm$ 0,50
4. Atrophie	+	-
n	8	21
LI	9,12 $\pm$ 4,20	7,52 $\pm$ 4,20
mSBZ/100 BZ	8,60 $\pm$ 4,60	11,22 $\pm$ 5,51

Fortsetzung

Fortsetzung Tabelle Nr. 8

Zu 4.	+	-
mZ/100 μ m	2,89 $\pm$ 1,14	3,03 $\pm$ 1,37
mBZ/mSBZ	1,72 $\pm$ 1,55	0,83 $\pm$ 0,59
5. Entzündliches Infiltrat	+	-
n	22	7
LI	7,92 $\pm$ 3,41	8,09 $\pm$ 6,43
mSBZ/100 BZ	11,01 $\pm$ 5,06	8,62 $\pm$ 6,13
mZ/100 μ m	3,09 $\pm$ 1,18	2,72 $\pm$ 1,70
mBZ/mSBZ	1,02 $\pm$ 1,05	1,27 $\pm$ 0,87

Abbildung Nr. 1.: Paardifferenzwerte zwischen Leukoplakie und autologer gesunder Schleimhaut, links bezüglich Basalzellmarkierungsindex, rechts bezüglich markierter Suprabasalzellen



ΔLI = Differenz der Basalzellmarkierungsindices,
 $\Delta mSBZ$ = Differenz der Zahl der markierten Suprabasalzellen pro 100 Basalzellen.

Abbildung Nr. 2.: Paardifferenzwerte zwischen Leukoplakie und autologer gesunder Schleimhaut von Basalzellmarkierungsindex und markierten Suprabasalzellen, geordnet nach den besonders berücksichtigten histologischen Merkmalen



O = Orthohyperkeratose, P = Parahyperkeratose,

H = Hyperplasie, A = Atrophie,

ΔLI = Differenz der Basalzellmarkierungsindices,

$\Delta mSBZ$ = Differenz der Zahl der markierten Suprabasalzellen pro 100 Basalzellen.

5. DISKUSSION

Mit Hilfe der Methode der autoradiographischen Kernmarkierung lassen sich nach den bisherigen Erfahrungen proliferative Vorgänge an der menschlichen Mundschleimhaut gut darstellen. Die Vergleiche zwischen der bei vorliegender Arbeit angewendeten Methode der in-vitro Kurzzeitinkubation und der Methode der Injektion des isotonenmarkierten DNS-Vorläufers ^3H -Thymidin in den lebenden Organismus im Tierversuch ergaben etwa gleiche Markierungsindices (LACHAPPELLE et al. 1969, SCHMID et al. 1974).

Wir haben bei unseren Untersuchungen darauf geachtet, daß die in-vitro bestimmten Parameter die in-vivo vorliegenden Verhältnisse widerspiegeln: die entnommenen Biopsien wurden unmittelbar nach der Entnahme in einem geeigneten Nährmedium unter atmosphärischem Sauerstoffpartialdruck 30 Minuten lang inkubiert. Ausgewertet wurde nur ein 100 μm breiter Randbereich der Gewebstücke, wo ein ungestörter Ablauf der DNS-Synthese erwartet werden durfte (RAJEWSKY 1966, FETTICH et al. 1964, PRANTL 1977). Verschiedene Untersuchungen zeigten, daß unter diesen Bedingungen die Übereinstimmung mit den Verhältnissen in vivo gewährleistet ist (LACHAPPELLE et al. 1969, LACHAPPELLE 1970).

Trotzdem ergaben sich bei den autoradiographischen Werten, die wir bei unseren Zählungen erhielten, teilweise erhebliche Schwankungen. Als ein Erklärungshinweis mag die Beobachtung dienen, daß die Eindringtiefe des Inkubationsmediums, ersichtlich an der Markierungsverteilung, recht unterschiedlich war. Einige Präparate zeigten eine durchgehende Markierung von einem Rand der Biopsie zum anderen, andere waren nur in einem schmalen Randbereich markiert. Diese unterschiedlichen Eindringtiefen könnten auf einen unbekannten Gewebsfaktor zurückzuführen sein, der auch in den Randbereichen eine unterschiedliche Markierungsdichte und damit unterschiedliche autoradiographische Meßwerte trotz unveränderter Proliferation zur Folge hätte.

Zudem zeigten die untersuchten Leukoplakien an verschiedenen Stellen sehr unterschiedliche Markierungsdichten, so daß der errechnete Markierungsindex einen groben Mittelwert darstellte, der sich mit einem anderen Merkmal, das sich in seiner Lokalisation ändert, wie den histologischen Merkmalen, nur schwer korrelieren ließ. Außerdem könnte die Lokalisation der bioptischen Entnahmen innerhalb des leukoplakischen Bereichs eine Rolle spielen. Im Randbereich einer Leukoplakie könnten völlig andere Proliferationsverhältnisse als im Zentrum vorliegen (Wachstum oder Schwund des leukoplakischen Bereichs).

Im folgenden möchte ich versuchen, die Ergebnisse zu den einzelnen Fragestellungen zu diskutieren.

5.1. Vergleich der exogen-irritativen Leukoplakien mit ihren gesunden Vergleichsbiopsien

Im ersten Teil der vorliegenden Studie untersuchten wir exogen-irritative Leukoplakien, also Leukoplakien im engeren Sinn (HORNSTEIN 1977 a, HORNSTEIN 1977 b). Dabei diente jeder Patient als seine eigene Kontrolle, da gleichzeitig Biopsiematerial von der gesunden Wangenschleimhaut zur Untersuchung herangezogen wurde. Die für die beschriebenen Parameter erhaltenen Werte lagen im Bereich der in der Literatur beschriebenen (WALKER et al. 1974, ERHARD 1975). Beim Vergleich mit den gesunden Vergleichsbiopsien zeigte sich, daß die Werte der Basalzellmarkierung bei den Leukoplakien geringfügig höher lagen. Die Unterschiede waren statistisch auffällig ($\alpha \neq 0,05$). In Abbildung Nr. 1 links sind die Differenzen der Basalzellmarkierungsindices zwischen den Leukoplakien und ihren Vergleichsbiopsien aufgetragen. Wir fanden hier eine deutliche Konzentration der Differenzwerte im Bereich oberhalb der Nulllinie, also im positiven Bereich. Der Quotient markierte Suprabasalzellen pro 100 Basalzellen und die Gesamtzahl

markierter Zellen bezogen auf die Länge der Basalmembran unterschieden sich jedoch nicht. ALVAREZ et al. (1972) verglichen in einer ähnlichen Studie autoradiographische Werte von 6 Leukoplakien mit denen von gesunden Kontrollbiopsien derselben Patienten. Sie fanden keinen signifikanten Unterschied im Markierungsindex im Progenitor-kompartiment (in welchem sie die drei Zellagen oberhalb des Basalmembran zusammenfassen), wohl aber einen Unterschied in der Zahl der markierten Zellen bezogen auf die Gesamtzahl der Zellen im Epithel mit Kernen. Ein Vergleich dieser Ergebnisse mit denen aus unserer Arbeit ist jedoch nicht möglich, da die Autoren die markierten Zellen nicht in basal und suprabasal gelegene trennten und die Gesamtzahl der markierten Zellen nicht wie wir auf die Länge der Basalmembran bezogen. Die in unseren Untersuchungen gefundenen relativ geringen Unterschiede lassen sich zurückführen auf exogene Einflüsse, die sich auf Leukoplakien und gesunde Schleimhautbezirke gleichermaßen auswirken. Die als "gesund" bezeichneten Bezirke können als gesund nur im klinischen Sinne betrachtet werden. Diese Bezeichnung schließt einen präleukoplakischen Zustand, der sich klinisch noch nicht manifestiert hat, keineswegs aus. Ein solcher Zustand kann aber durchaus schon durch eine veränderte Proliferation gekennzeichnet sein. Diese Vermutung wird durch den noch geringeren Unterschied zwischen Leukoplakien und "normaler" Mucosa gestützt, den wir für das Kollektiv der Raucher feststellen konnten.

Mit der Bestimmung des Indexes mBZ/mSBZ versuchten wir eine eventuelle Verschiebung des Proliferationsgeschehens in die Basalschicht darzustellen. Wir fanden auch hier bei den Leukoplakien einen statistisch auffälligen Anstieg dieses Parameters.

WALKER und DOLBY (1974), die in ihrer Untersuchung die Markierungsindices für Basalzellen und Suprabasalzellen getrennt bestimmten, fanden eine noch ausgeprägtere Verschiebung der proliferativen Aktivität zur Basalmembran hin.

Ergebnisse hinsichtlich des Verhältnisses zwischen Basalzellen und Suprabasalzellen sind jedoch immer mit Vorsicht zu werten, da nicht gewährleistet werden kann, daß eine Zelle, die in einem Gewebsschnitt suprabasal liegend erscheint, nicht in einer anderen Ebene noch Verbindung mit der Basalmembran hat. Das Vorkommen dieses Fehlers haben LÖE und KARRING (1972) an Wachsmodellen nachgewiesen.

5.2. Tabakrauchen als kausalgenetischer Faktor für die Leukoplakieentstehung

Tabakkonsum wird mit als ursächlicher Faktor für die Leukoplakieentstehung angesehen. In indischen Untersuchungen konnte dieser Zusammenhang an großen Fallzahlen nachgewiesen werden (METHA et al. 1972). Die vorliegende Untersuchung erbrachte aber weder bei den Leukoplakien noch bei den gesunden Schleimhautbiopsien einen Unterschied beim Vergleich zwischen Raucher und Nichtraucher. Im Raucherkollektiv wurde gesondert der Vergleich Leukoplakie/gesunde Vergleichsbiopsie angestellt. Hier ließen sich im Paarvergleich auch die im Gesamtkollektiv gefundenen Unterschiede im Basalzellmarkierungsindex nicht nachweisen. Dies könnte erklärt werden durch die gemeinsame Beeinflussung beider Schleimhautareale durch die im Tabakrauch enthaltenen Stoffe. Dagegen spricht jedoch, daß der Vergleich Raucher/Gesamtkollektiv für keinen der bestimmten Indices Unterschiede erbrachte.

In der bisherigen Literatur finden sich keine vergleichbaren Untersuchungen, die einen Zusammenhang zwischen Tabakkonsum und veränderter Proliferationskinetik nachgewiesen hätten. Nach FASSKE et al. (1958) darf die Bedeutung des Tabakrauchens für die Entstehung von Leukoplakien der Mundschleimhaut nicht überschätzt werden.

Dies gilt zumindest für den europäischen Raum, wo sich der Tabakkonsum meist auf das Rauchen beschränkt und andere Anwendungsmöglichkeiten, wie das in Indien ausgeübte Betelnußkauen (mit Beimischung von Tabak) nicht üblich sind. FASSKE et al. hatten in einem Kollektiv von 103 Leukoplakiepatienten 43 ältere Frauen, bei denen Tabakkonsum ausgeschlossen werden konnte.

5.3. Einfluß des Alters auf die Proliferation

Der Einfluß des Alters auf die Gewebsproliferation von Schleimhäuten ließ sich nach den Ergebnissen der bisherigen Literatur nicht eindeutig beurteilen. SCHMID et al. (1973) fanden bei Ratten verschiedenen Alters eine weitgehende Übereinstimmung der Basalzellmarkierung der Wangenschleimhaut und der Zunge. Am menschlichen Mundhöhlenepithel konnten verschiedene Autoren altersabhängige Veränderungen der Teilungsaktivität nachweisen. MEYER et al. (1956), MARWAH et al. (1960) und GARGUGLIO et al. (1961) stellten übereinstimmend eine Erhöhung der Teilungsaktivität mit steigendem Alter an menschlicher Gingivia fest. Diese Ergebnisse sind allerdings mit Mitosenzählungen gewonnen worden, die im Vergleich zu unseren histoautoradiographischen Methoden ungenau sind. GÖTZE (1970), der die autoradiographische Methode anwendete, konnte keine Beziehung zwischen Lebensalter des Patienten und der proliferativen Aktivität an menschlicher Gingivia nachweisen.

In unserem Material zeigte sich weder bei den Leukoplakien noch bei den gesunden Schleimhäuten eine Beziehung zwischen den Markierungsindices und dem Alter.

5.4. Geschlechtspezifische Unterschiede in der Proliferation

Betrachtet man unser Kollektiv von Leukoplakiepatienten so nach Geschlechtern getrennt fällt auf, daß bei den

gesunden Schleimhäuten der Mittelwert der Markierungsindices der Basalzellen bei den Frauen niedriger lag als bei den Männern. Dieser Unterschied ließ sich bei den untersuchten leukoplakischen Schleimhäuten nicht feststellen. Dies deutet auf einen hormonellen Einfluß auf die Schleimhautproliferation hin, dem sich leukoplakisch veränderte Bezirke nicht mehr unterwerfen. BRESCIANI (1965) hat in einer Arbeit zur Zellkinetik im normalen, hyperplastischen und maligne entarteten Mammagewebe weiblicher Mäuse herausgestellt, daß die Behandlung mit 17-Beta-Östriol und Progesteron am gesunden Gewebe eine Verkürzung der Zyklusdauer (T_c) bewirkt. Dies würde sich bei der Histoautoradiographie in einem Anstieg der Zahl der markierten Zellen im Progenitor-Kompartiment bemerkbar machen. Wir haben also keinen Anhalt für die Annahme einer Verkürzung der Zykluszeit im Epithel unserer weiblichen Patienten, zumal da auch die Gesamtzahl der markierten Zellen bezogen auf die Fläche der Basalmembran niedriger als bei den Männern lag.

5.5. Veränderung der Proliferation in Beziehung zu den histologischen Strukturbildern

Bei der histologischen Beurteilung unserer 29 exogen-irritativen Leukoplakien interessierten uns die von BANOCZY und CSIBA (1972) in einer Studie über die histopathologische Struktur oraler Leukoplakien als charakteristisch erachteten Merkmale Orthohyperkeratose, Parahyperkeratose, Hyperplasie und Atrophie. In dieser Studie, in der die Autoren das klinische und das histologische Bild von oralen Leukoplakien einander zuordneten, beobachteten sie bei planen Leukoplakien (Leukoplakia simplex) meist die Merkmale Orthokeratose, Orthohyperkeratose und

Atrophie, bei den erosiven meist die Merkmale Parakeratose, Parahyperkeratose und Hyperplasie. In Übereinstimmung mit CAHN et al. (1961), TURESKY et al. (1961), SHAFTER und WALDRON (1961) stellten sie fest, daß das Merkmal Parakeratose sehr oft mit dem Merkmal Hyperplasie kombiniert ist. Diese Kombination trat auch in unserem Leukoplakiematerial am häufigsten auf, nämlich in 13 von 29 Leukoplakien.

WALDRON und SHAFTER (1975) fanden in ihrem umfangreichen Leukoplakiematerial von 3256 Fällen in 80,1 % verschiedene Kombinationen von Orthohyperkeratose, Parahyperkeratose und Akanthose. Leider bestimmten sie nicht die relative Häufigkeit der einzelnen Merkmale. BANOCZY und CSIBA (1972) bemerkten außerdem bei para- und hyperparakeratotischen Leukoplakien eine geringere Tendenz zur Rückbildung als bei den übrigen Leukoplakieformen in ihrem Kollektiv.

Bei gesunden Schleimhäuten bleibt nach Erreichen eines funktionell notwendigen Zustandes die Dicke und der Keratinisierungsgrad des Epithels konstant. Die Zellneubildung entspricht dem durch die Abschilferung verursachten Zellverlust. Die Steuerung der Zellneubildung wird den von BULLOUGH (1964) nachgewiesenen Chalone zugeschrieben. Diese Stoffe, die als Hemmstoffe der Proliferation wirken, werden von den sich differenzierenden postmitotischen Zellen des Stratum spinosum gebildet. Die Steuerung der Proliferation in der menschlichen Epidermis vollzieht sich also nach einem innergeweblichen Regulationsmechanismus, der auf einem Feed-back-System zwischen differenzierten und undifferenzierten Zellen beruht.

Den bei unseren noxigenen Leukoplakien gefundenen histologischen Merkmalen können prinzipiell folgende Veränderungen der Proliferation zu Grunde liegen:

1. Vergrößerung des proliferativen Pools (Progenitor-kompartiments),

2. Beschleunigung des Zellzyklus (ALVAREZ 1972),
3. beschleunigte oder verlangsamte Abwanderung der Zellen in die oberen Schichten des Epithels und damit veränderte Differenzierung und
4. vermehrte Abschilferung der Zellen an der Schleimhautoberfläche.

Dabei lassen sich den einzelnen histologischen Merkmalen durchaus unterschiedliche proliferationskinetische Modelle zuordnen.

5.5.1. Orthohyperkeratose

Verhornung im Bereich der Mundschleimhaut ist Ausdruck einer vermehrten mechanischen Alteration. Anzeichen der veränderten Zelldifferenzierung in keratinisierten Bereichen sind schon im Stratum basale und ausgeprägt im Stratum spinosum nachweisbar. FASSKE und Mitarbeiter (1958) beschreiben bei orthokeratotischen Leukoplakien der Mundschleimhaut eine Auflösung der Mitochondrien in der Basalschicht und eine Zunahme der Zahl der Tonofilamente vom Stratum spinosum ab. Sie betrachten das Verhalten der Mitochondrien in der Basalschicht als Indikator für die Intensität des weiteren Verhornungsablaufes, nachdem sie folgende Beziehung gefunden haben: Je intensiver die oberflächliche Verhornung, um so eher erfolgt die Einleitung des darauf hinführenden Prozesses, in um so tieferen Zellschichten sind Mitochondrienveränderungen nachweisbar. Die Ergebnisse dieser frühen elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden durch jüngere stereologische Studien (KLEIN-SZANTO et al. 1976) bestätigt.

Die Autoren fanden bei orthokeratotischen Leukoplakien durch genaue Beobachtung und Vermessung der zellulären Ultrastrukturen ein Differenzierungsmuster, das auffallende Ähnlichkeit mit dem der äußeren Haut und dem des

harten Gaumens besaß. So zeigten sich in den Basalzellen weniger und kleinere Mitochondrien und dünnere zytoplasmatische Filamente als bei der nicht verhornten Schleimhaut. Unter dem Gesichtspunkt einer Veränderung und Verlagerung der Differenzierung liegt die Vermutung einer Veränderung der Zellneubildung nahe. MEYER et al. (1967) fanden in einer Untersuchung an tabakinduzierten oralen Leukoplakien eine positive Korrelation zwischen Dicke der Orthokeratinschicht und der Abnahme der mitotischen Aktivität.

In unserem Material wurde die Orthohyperkeratose in 18 von 29 Fällen beobachtet. Gegenüber den Leukoplakien, in denen das Merkmal nicht nachweisbar war, konnten wir mit der Methode der Histoautoradiographie nur eine geringfügige Erniedrigung der Basalzellmarkierung feststellen, die statistisch nicht abzusichern war. Auch eine Verlagerung der Proliferation in die Basalschicht, die sich andeutete, ließ sich nicht nachweisen.

5.5.2. Parahyperkeratose

Auch hier liegt ein verändertes Differenzierungsmuster vor, das makroskopisch zu einer dicken Hornschicht im Mundschleimhautepithel führt. Zudem treten in den verhornenden Schichten Zellen mit teilweise pyknotischen Kernen auf.

Die klassische Form der Parakeratose liegt bei der Psoriasissschuppe vor, wo sie Ausdruck einer überstürzten Zellneubildung ist. Auch wenn wir dieses Phänomen als Ausdruck einer verlangsamten Differenzierung der Zellen beim Abwandern in die suprabasalen Schichten auffassen, können wir nach dem Modell der intraepithelialen Steuerung der Gewebsneubildung auf eine verminderte Chalonbildung und damit auf eine höhere Proliferationsrate schließen.

Andererseits können wir das Auftreten kernhaltiger Zellen in höheren Schichten als Verschiebung der Zellneubildung in diese Bereiche deuten. In diesem Falle würden wir das Auftreten markierter Zellen in diesen Schichten oder zumindest eine Verschiebung des Verhältnisses markierte Basalzellen/markierte Suprabasalzellen erwarten. RENSTRUP (1963) konnte in ihrem Leukoplakiematerial bei hyperkeratotischer Schleimhaut einen vier Mal höheren Mitoseindex gegenüber hyperorthokeratotischen finden. Dieses Ergebnis konnten EL-LABBAN, LUCAS und KRAMER (1971) nicht bestätigen, die in ihrem Leukoplakiematerial zwischen ortho- und parakeratotischen Schleimhäuten keinen signifikanten Unterschied im Mitoseindex nachweisen konnten.

In unserem Material konnten wir das Merkmal Hyperparakeratose am häufigsten, nämlich 20 Mal nachweisen. Diese 20 Fälle zeigten einen erheblich höheren Wert der Basalzellmarkierung; der Mittelwert lag bei 8,9 im Vergleich zu 5,8 bei den anderen Leukoplakien. Der Unterschied läßt sich auch in der Gesamtzahl der markierten Zellen bezogen auf die Länge der Basalmembran feststellen. Der entsprechende Wert lag im Durchschnitt bei 3,1 im Vergleich zu 2,6. Dagegen war das Verhältnis der markierten Basalzellen zu den markierten Suprabasalzellen nicht verschoben. Der Unterschied im Basalzellmarkierungsindex ist folglich nicht Ausdruck einer Verschiebung der proliferativen Aktivität in die Basalschicht, sondern einer Erhöhung der gesamten proliferativen Aktivität des Progenitorkompartiments. In Abbildung Nr. 2, wo die Differenzen der Markierungsindices zwischen den Leukoplakien und den Vergleichsbiopsien aufgetragen sind, zeigt sich eine Häufung im positiven Bereich.

5.5.3. Hyperplasie

Hier liegt eine allgemeine Verdickung des Epithels in Folge einer Verbreiterung aller Schichten vor. Prinzipiell könnte dies durch eine Vergrößerung der Growth-Fraction bedingt sein. Dabei wäre die Einbeziehung der suprabasal liegenden Schichten in die Proliferation möglich. Eine andere Möglichkeit wäre eine stärkere Auffaltung der Basalmembran im Sinne einer Akanthose, welche eine Vergrößerung der Basalfläche und somit der Zahl der Basalzellen zur Folge hätte. Auch eine Verkürzung der Zyklusdauer, wie sie ALVAREZ et al. (1972) bei Leukoplakien beschrieben haben, führt zu einem verstärkten Zellnachschub und somit zu einer Epithelverdickung, wenn die übrigen Faktoren der Proliferation unverändert bleiben.

Bei unseren Leukoplakien exogen-irritativer Genese beobachteten wir das Merkmal in 17 von 29 Fällen. Wir konnten keine Veränderung der Proliferation im Sinne obiger Überlegungen nachweisen. Gegenüber dem Restkollektiv deutete sich eine leichte Verminderung der proliferativen Aktivität an, die sich in der Basalschicht und Suprabasalschicht gleichermaßen auswirkte. Diese Verminderung konnte aber statistisch nicht nachgewiesen werden.

5.5.4. Atrophie

Atrophie des Epithels beinhaltet eine allgemeine Reduktion der Epitheldicke, beruhend auf einer Verminderung der Zellzahl. Einem gleichbleibenden Zellverlust steht also eine verminderte Zellneubildung gegenüber oder der Zellverlust ist bei gleichbleibender Zellneubildung erhöht. Bei Annahme einer verminderten Zellneubildung gibt es wieder zwei hypothetische Möglichkeiten: die Zahl der proliferierenden Zellen innerhalb der Basalschicht vermindert

sich oder der gesamte Pool der Basalzellen nimmt durch Verstreichen der Ausfaltungen der Basalmembran ab. Nur im ersten Falle würden wir eine Abnahme des Basalzellmarkierungsindices erwarten, im anderen Falle wäre er unverändert.

EL-LABBAN et al. (1971) fanden bei den 10 % ihrer Leukoplakien mit atrophischen Epithelbezirken keine strenge Beziehung zum Mitoseindex. In der Gruppe der Fälle von Lichen planus mucosae hatten sie in 41 % atrophische Formen mit einem geringfügig höheren Mitoseindex in der Basalzellschicht.

Wir konnten nur an 8 unserer Leukoplakien das Merkmal Atrophie nachweisen. Der Mittelwert der Markierungsindices der Basalzellen lag auch bei diesen höher als im Restkollektiv; der Unterschied war aber wegen der geringen Fallzahl statistisch nicht relevant. Der Mittelwert der markierten Suprabasalzellen lag niedriger. Die Gesamtzahl der proliferierenden Zellen pro Länge der Basalmembran war unverändert. Dementsprechend konnten wir ein verändertes Verhältnis markierte Basalzellen/markierte Suprabasalzellen feststellen; die Werte lagen im Durchschnitt doppelt so hoch. Deshalb müssen wir vermuten, daß der Pool der proliferierenden Zellen durch Verstreichen der Ausfaltungen der Basalmembran abgenommen hat. Diese Annahme stimmt im allgemeinen auch mit dem histologischen Befund überein.

Auch WALKER und DOLBY (1974) berichten in ihrer Studie über Markierungsdichten bei Lichen planus mucosae über einen Anstieg der Basalzellmarkierung und einen Abfall der Suprabasalzellmarkierung bei atrophischen Formen. Sie vermuten einen Abfall der Gesamtzahl markierter Zellen gegenüber hyperplastischen Formen, den sie aber nicht nachweisen können.

5.5.5. Entzündliche Infiltration

Verschiedene Autoren heben den Einfluß der entzündlichen Infiltration des Bindegewebes auf die proliferative Aktivität des angrenzenden Epithels hervor. Dieser Einfluß wurde besonders für die menschlichen Gingivia hervorgehoben. BANOCZY und CSIBA (1972) fanden in einem Großteil ihres Leukoplakiematerials Zeichen einer chronischen Entzündung, besonders ausgeprägt bei den verrucösen Formen. MARWAH et al. (1960) untersuchten den Einfluß chronischer Entzündung auf die epitheliale Proliferation im Bereich der menschlichen Gingivia. Sie fanden bei den entzündlichen veränderten Biopsien eine Steigerung der Mitoserate um das 1,5- bis 3-fache. Allerdings war die Mitoserate in ungefähr der Hälfte der Fälle innerhalb der normalen Grenzen, in der anderen Hälfte jedoch besonders hoch. LEHNER (1971), der die mononucleäre Zellinfiltration an Leukoplakien untersuchte, fand sie bei Leukoplakien mit ausgeprägter oberflächlicher Verhornung am intensivsten. Auch Biopsien von Lichen planus mucosae zeigten einen höheren Grad an mononucleärer Infiltration. Dagegen fanden WALKER und DOLBY (1974) bei 17 Fällen von Lichen planus mucosae den Markierungsindex dann erniedrigt, wenn die zelluläre Infiltration des Bindegewebes besonders hoch war. Sie räumen jedoch ein, daß dies nicht als inverse Beziehung zwischen Markierungsindex und Entzündungsgrad gewertet werden dürfte. In unserem Kollektiv von 29 noxigenen Leukoplakien zeigten 22 entzündliche Infiltrate unterschiedlicher Ausprägung. Diese hatten im Vergleich zu den anderen keine wesentlich veränderten autoradiographischen Werte. Lediglich eine Zunahme der markierten Suprabasalzellen schien sich abzuzeichnen. Allerdings war diese wegen der Streubreite der Werte nicht statistisch abzusichern. Die Zunahme der Suprabasalzellmarkierung steht allerdings im Widerspruch zu der Meinung,

daß eine entzündliche Infiltration der Schleimhaut mit der Tendenz zur Verschiebung der Proliferation in die Basalschicht in Zusammenhang stehen soll (MAIDHOF 1977). Dieser Zusammenhang wird mit einer Vermehrung der basalen DNS-Synthese erklärt, wie sie auch im Portio-epithel des Zervix uteri bei entzündlicher Infiltration gefunden wurde (FETTICH und OEHLERT 1964).

5.6. Lichen planus mucosae als nosogene Form der oralen Leukoplakie

Getrennt von den noxigenen Leukoplakien untersuchten wir 9 Leukoplakien vom Typ des Lichen planus mucosae. Für fünf von diesen lag Vergleichsmaterial aus den Bereichen gesunder Mundschleimhaut vor.

Der Mittelwert der Basalmarkierungsindices lag bei den Leukoplakien niedriger als bei den Vergleichsbiopsien (7,64 im Vergleich zu 10,8). Wegen der hier besonders hohen Schwankungsbreiten waren die Unterschiede statistisch nicht relevant. WALKER und DOLBY (1972) fanden in ihrem Material von 17 Lichen-planus-mucosae-Fällen keine Unterschiede gegenüber Mundschleimhautbiopsien von gesunden Patienten in der gesamten proliferativen Aktivität. Gleichzeitig berichten sie jedoch über eine Verschiebung der Proliferation in die Basalschicht, wie wir sie in unserem Kollektiv noxigener Leukoplakien beobachten konnten. Insgesamt konnten wir an Hand unseres Materials keinen Unterschied in der proliferativen Aktivität zwischen noxigenen und nosogenen Leukoplakieformen feststellen.

5.7. Präkanzeröse Leukoplakien

Bei den drei untersuchten Leukoplakien stellten wir unterschiedliche Stadien der dysplastischen Entwicklung fest (Dysplasiegrad 1+ bis 3; siehe Tabelle Nr. 6).

Histologisch fanden wir erwartungsgemäß ein buntes Bild. Alle drei wiesen parahyperkeratotische Bereiche auf. Zwei zeigten gleichzeitig an verschiedenen Stellen atrophische und hyperplastische Zonen, ein Phänomen, das wir bei unseren benignen Leukoplakien nicht angetroffen hatten. Die Unterschiede in der dysplastischen Entwicklung zeichneten sich nicht im Markierungsindex der Basalzellen ab, der sich in allen drei Fällen im Bereich der benignen Leukoplakien befand. Dagegen lagen die Quoten der markierten Suprabasalzellen im Durchschnitt niedriger. Dieser Befund kann wegen der geringen Fallzahl allerdings nur orientierend verwertet werden.

5.8. Zeitlicher Ablauf von Leukoplakieentstehung und -rückbildung

Bei unseren untersuchten Leukoplakien ergaben sich in den autoradiographischen Meßwerten teilweise erhebliche Schwankungen. Zur Deutung dieser Schwankungen ist der zeitliche Ablauf von Proliferationsänderungen in Betracht zu ziehen. Im Tierversuch hat SCHILLI (1964) nachgewiesen, daß nach Verkleinerung der Mundhöhle durch künstlichen Aufbiß zunächst eine temporäre Verdoppelung des Markierungsindex der Zungenschleimhaut erfolgt. Nach 8 Tagen hatte er jedoch seinen Ausgangswert wieder erreicht und stieg bei erneuter Epithelbelastung nicht wieder an. Überträgt man diese Befunde auf die menschliche Schleimhaut und versteht man Leukoplakien wenigstens zum Teil als Ausdruck der Reaktion der Schleimhaut auf chronische Reize, so kann man sich einen ähnlichen Ablauf der Leukoplakieentstehung vorstellen. Im Anfangsstadium der Leukoplakiebildung wäre dann eine vorübergehende Proliferationssteigerung zu erwarten, bis sich ein den neuen Verhältnissen entsprechendes Gleichgewicht herausgebildet hätte. Wenn dieses Gleichgewicht erreicht ist, hat auch die Proliferationsgeschwindigkeit wieder ihr ursprüngliches Niveau erreicht.

Analoges kann man sich auch für den Wegfall eines leukoplakieerzeugenden Reizes denken. Da bei den meisten Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchungen die Leukoplakien schon einige Zeit bestanden, können wir nicht eindeutig festlegen, in welcher Phase der Entstehung bzw. Rückbildung, oder ob sie sich in einem stationären Zustand befanden. Auch die zusätzliche Information des histologischen Bildes gibt uns darüber keinen Aufschluß, da auch dieses nur eine Momentanaufnahme eines Gewebes ist und nichts über dessen Entwicklungsphase aussagt.

Die Theorie der intraepidermalen Steuerung der Proliferation (IVERSEN 1962) darf also nicht so interpretiert werden, als ob das Niveau des Rückkoppelungsmechanismus im Laufe der Zeit nicht veränderbar wäre. Auch wenn dieses veränderte Niveau sich nicht durch veränderte Markierungsindices manifestiert, bleibt die Vorstellung der Proliferationssteuerung durch Substanzen aus den differenzierten Zellen auch für krankhafte Zustände wie Leukoplakien gültig. Voraussetzung ist allerdings, daß man sich die Wirkung der exogenen und auch endogenen Einflüsse der Leukoplakieentstehung als Vorschubgröße für das veränderte Niveau des Gleichgewichts zwischen Zellneubildung und Zellverlust vorstellt.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Für einen Vergleich der Proliferation noxigener und nosogener oraler Leukoplakien untersuchten wir 29 Leukoplakien exogen-irritativer Genese, 9 vom Typ des Lichen planus mucosae und 3 präkanzeröse Leukoplakien. Dazu wurden aus den leukoplakischen Bereichen und aus der autologen klinisch gesunden Mucosa Histoautoradiogramme angefertigt. Zusätzlich wurde das Material herkömmlich histologisch befundet. Zur quantitativen Erfassung der proliferativen Aktivität berechneten wir den ^3H -Index der Basalzellen (LI), den Prozentsatz der markierten Suprabasalzellen ($\text{mSBZ}/100 \text{ BZ}$), die Zahl der markierten Zellen bezogen auf die Basalmembranfläche ($\text{mZ}/100 \mu\text{m}$) und das Verhältnis zwischen den markierten Basal- und Suprabasalzellen (mBZ/mSBZ).

Bei den noxigenen Formen fanden wir eine statistisch auffällig höhere Basalzellmarkierung gegenüber den autologen gesunden Schleimhautbezirken. Der Prozentsatz der markierten Suprabasalzellen lag niedriger. Dies deuteten wir als Verschiebung der Proliferation in die Basalschicht des Epithels der noxigenen oralen Leukoplakien. Dabei bildeten die von Rauchern entnommenen leukoplakischen Biopsien keine Besonderheit. Das Alter der Patienten hatte keinen Einfluß auf die Proliferation der leukoplakischen Schleimhäute unseres Kollektivs. Ebenso zeigten sich keine geschlechtsspezifischen Unterschiede.

Zur genaueren Beurteilung der Proliferation unserer noxigenen Leukoplakien teilten wir sie in Gruppen nach den vorherrschenden histologischen Strukturmerkmalen ein. Bei den meisten unserer Leukoplakien war das Merkmal Parahyperkeratose dominant. Diese parahyperkeratotischen Leukoplakien zeigten eine deutlich höhere Basalzellmarkierung, aber auch eine Steigerung der Markierung in den suprabasalen Bereichen. Dies deutete auf eine Erhöhung der gesamten proliferativen Aktivität ohne Schwerpunkt in der Lokalisation hin. Die Orthohyperkeratotischen Leukoplakien zeigten gegenüber den übrigen noxigenen Leuko-

plakien keine Besonderheit in der proliferativen Aktivität. Bei den hyperplastischen Formen war die Proliferation insgesamt leicht vermindert. Bei den atrophischen leukoplakischen Schleimhautbezirken fanden wir eine leicht erhöhte Proliferation in der Basalzell- und eine verminderte in der Suprabasalzellschicht. Wir vermuten dabei eine verminderte Zellneubildung durch Verstreichen der Ausfaltungen der Basalmembran, kombiniert mit einem erhöhten Zellverlust. Die entzündliche Infiltration, die wir in der Mehrzahl der untersuchten noxigenen Leukoplakien im Bindegewebe fanden, hatte keine veränderte Markierungsdichte im angrenzenden Epithel zur Folge.

Bei Auswertung unserer nosogenen Leukoplakien (Lichen planus mucosae) zeigten sich keine Unterschiede zu den noxigenen Formen. Ebenso zeigte die Auswertung der drei präkanzerösen Leukoplakien gegenüber den benignen Formen keine faßbaren Unterschiede hinsichtlich der Proliferation.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- ALVAREZ, O. F.,
M. R. SKOUGAARD,
J. J. PINDBORG,
B. ROED-PETERSEN
In vitro incorporation of tritiated thymidine in oral homogeneous leukoplakias.
Scand. J. dent. Res. 80, 510 - 514
(1972)
- BANOCZY, J.,
O. TÖRÖK
Studies on human hyperkeratotic oral mucosa kept in tissue and organ cultures.
Arch. oral Biol., 15, 115 - 126
(1970)
- BANOCZY, J.,
A. CSIBA
Comparative study of the clinical picture and histopathologic structure of oral leukoplakia.
Cancer 29, 1230 - 1234
(1972)
- BANOCZY, J.,
L. SUGAR
Progressive and regressive Changes in Hungarian oral Leukoplakias in the Course of longitudinal Studies.
Community Dent. Oral. Epidemiol. 3,
194 - 197
(1975)
- BRESCIANY, F.
A comparison of the cell generative cycle in normal, hyperplastic and neoplastic mammary gland of the C3H mouse.
In Cellular radiation biology
18. Annual symposium on fundamental cancer research. Page 547
The University of Texas M. D. Anderson Hospital and Tumor Institute.

Baltimore: The Williams and Wilkins
Company 1965.

BULLOUGH, W.S.,
E. B. LAURENCE

The diurnal cycle in epidermal mitotic
duration and its relation to chalone
and adrenalin.

Exp. Cell Res. 44, 343 - 350
(1964)

CAHN, L. R.,
L. EISENBUD,
M. BLAKE

Histochemical analyses of white lesions
of the mouth.

Oral Surg. Med. Pathol. 14, 596 - 602
(1961)

EHLERS, G.

DNS-Gehalt von Hautpräkanzerosen. Ein
Beitrag zur Frage der nosologischen Son-
derstellung kutaner Präkanzerosen.

Fortschr. Med. 89, 1042 - 1043
(1971)

EL-LABBAN, N.,
R. B. LUCAS,
I. R. H. KRAMER

The mitotic values for the epithelium in
oral keratoses and lichen planus.

Brit. J. Cancer 25/3, 411 - 416
(1971)

ERHARD, L.

Autoradiographische in vitro-Untersuchung
zur Bestimmung des ^3H -Indexes am Epithel
der menschlichen Mundhöhle.

Inauguraldissertation Erlangen-Nürnberg
(1975)

FABRICANT, J. I.,
C. L. WISSEMAN,
M. J. VITAK

The kinetics of cellular proliferation
in normal and malignant tissues.
II. An in vitro Method for Incorporation
of tritiated Thymidine in Human Tissues
Radiology 92, 1309 - 1320
(1969)

FABRICANT, J. I.,
J. CHERRY

The kinetics of cellular proliferation
in normal and malignant tissues.
V. Analysis of labelling indices and
potential tissue doubling times in
human tumor cell populations.
J. Surg. Oncol. 1(1), 23 - 47
(1969)

FASSKE, E.,
W. HAHN,
K. MORGENROTH,
H. THEMANN

Die Leukoplakie der menschlichen Mund-
schleimhaut.
Mitteilungsdienst der Gesellschaft zur
Bekämpfung der Krebskrankheiten I,1
(1958)

FETTICH, O.,
W. OEHLERT

Untersuchungen zur DNS-, RNS- und Pro-
teinsynthese am menschlichen Abrasions-
und Excisionsmaterial.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 48, 288 - 295
(1964)

GARGUGLIO, A. W.,
F. M. WENTZ,
B. ORBAN

Mitotic activity of human oral epithe-
lium expodes to 30 per cent hydrogen
peroxide.
Oral Surg., Oral Med., Oral Path. 14,
474 - 492
(1961)

- GILLESPIE, G. Renewal of buccalepithelium.
Oral Surg. 27, 83
(1969)
- GÖTZE, W. Über die Zellproliferation in der Gin-
givia junger und alter Menschen.
Dtsch. zahnärztl. Z. 25, 188 - 191
(1970)
- GREITHER, A. Leukoplakien der Lippen und der Mund-
schleimhaut.
Dtsch. zahnärztl. Z. 25, 961 - 964
(1970)
- HENRY, J. L.,
J. MEYER,
J. P. WEINMANN,
I. SCHOUR Pattern of mitotic activity in oral
epithelium of rabbits.
Arch. Path. 54, 281 - 297
(1952)
- HØBAEK, A. Leukoplakia oris.
Acta odont. scand. 7, 61
(1946)
- HORNSTEIN, O. P. Orale Leukoplakien.
I. Klassifikation, Differentialdiagnose,
etiologische Bedingungen der Kanzeri-
sierung, Prognose.
Dtsch. zahnärztl. Z. 32, 497 - 505
(1977 a)
- HORNSTEIN, O. P. Leukoplakien der Mundschleimhaut
Zentralblatt Haut- und Geschlechtskrank-
heiten 139, 1 - 17
(1977 b)

- IVERSEN, O. H. The regulation of cell numbers in epidermis. A cybernetic point of view. Acta path. microbiol. scand. Suppl. 148, 91 - 96 (1961)
- IVERSEN, O. H.,
A. EVENSEN Experimental skin carcinogenesis in mice. Acta path. microbiol. scand. Suppl. 156, 184 (1962)
- KARRING, T. Mitotic activity in the oral epithelium. J. Periodont. Res. 8/13, 47 (1973)
- KIRSCHNER, H. Autoradiographische Untersuchungen über die Regeneration der Mundschleimhaut. Habilitationsschrift, Gießen (1968)
- KLEIN-SZANTO, A. J.,
J. BANOCZY,
H. E. SCHROEDER Metaplastic conversion of the differentiation pattern in oral epithelia affected by leukoplakia simplex. Path. Europ. 11, 189 - 210 (1976)
- KRAMER, J. R. Precancerous lesions of the mouth. J. Laryngol. Otol. 90, 95 - 100 (1976)
- LACHAPELLE, J. M. Etude autoradiographique de l'incorporation in vitro de thymidine tritiée dans la peau humaine normale et dans

certain proliferations epidermiques.
Path. Europ. 5, Suppl. 1., 1 - 216
(1970)

LACHAPELLE, J. M.,
T. GILLMANN

Tritiated thymidine labelling of normal
human epidermal nuclei. A comparison
in the same subjects of in vivo and in
vitro techniques.
Brit. J. Derm. 81, 603 - 616
(1969)

LEBLOND, C. P.,
R. C. GREULICH,
J. P. M. PEIREIRA

Relationship of cell formation and cell
migration in the renewal of tritiated
squamous epithelia.
In Advances in biology of skin, vol. 5.
Oxford-London-Edinburgh-New York-Paris-
Frankfurt:
Pergamon Press 1964

LEHNER, T.

Quantitative Assessment of lymphocytes
and plasma cells in leukoplakia, candi-
diasis and lichen planus.
J. Dent. Res. 50, 1661 - 1665
(1971)

LÖE, H.,
T. KARRING
K. HARA

The site of mitotic activity in rat and
human oral epithelium.
Scand. J. dent. Res. 80, 111 - 119
(1972)

MAIDHOF, R.,
F. PRANTL,
O. P. HORNSTEIN,
H. SCHELL

Zur Proliferationskinetik der normalen
und leukoplakischen Wangenmucosa.
(1977 im Druck)

- MAIDHOF, R.,
O. P. HORNSTEIN,
H. SCHELL,
H. ROSENBERGER,
F. PRANTL
Vergleichende histologische und histo-
autoradiographische Untersuchungen an
benignen oralen Leukoplakien.
Arch. Derm. Res. 259, 71 - 82
(1977)
- MARWAH, A. S.,
J. P. WEIMANN,
J. MEYER
Effect of chronic inflammation on the
epithelial turnover of the human gin-
givia.
A. M. A. Arch. Path. 69, 147 - 153
(1960)
- MATHIS, H.
Präkanzerosen der Mundschleimhäute.
Zahnärztliche Rdschr. 73, 321
(1964)
- MENDELSON, M. L.
Autoradiographic analysis of cell pro-
liferation in spontaneour breast cancer
of C3H-mouse. III. The growth fraction.
J. nat. Cancer Inst. 28, 1015
(1962)
- METHA, F. S.,
J. J. PINDBORG,
J. E. HAMMER
Oral cancer and Precancerous Conditions
in India.
Copenhagen, Munksgaard
(1971)
- METHA, F. S.,
B. C. SHROFF,
P. C. GUPTA,
D. DAFTARY
Oral leukoplakia in relation to tobacco
habits. A ten-year follow-up study of
Bombay policemen.
Oral Surg. 34, 426
(1972)

- MEYER, J. W.,
A. S. MARWAH,
J. P. WEINMANN
Mitotic rate of gingivial epithelium in
two age groups.
J. invest. Derm. 27, 237 - 247
(1956)
- MEYER, J. W.,
D. K. DAFTARY,
J. J. PINDBORG
Studies in oral leukoplakias.
XI. Histopathology of leukoplakias in
Indians chewing "Pan" with tobacco.
Acta odont. scand. 25, 397 - 435
(1967)
- OEHLERT, W.
Die Steuerung und Regeneration im mehr-
schichtigen Plattenepithel.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 51, 90 - 119
(1966)
- OEHLERT, W.
Regeneration, Hyperplasie und Kanzeri-
sierung im mehrschichtigen Platten-
epithel.
Dtsch. zahnärztl. Z. 25, 949 - 960
(1970)
- PAYNE, T. F.
Why are white lesions white?
Oral Surg. 40, 652
(1975)
- PFITZER, P.,
H. D. PAPE
Investigation of DNA-Content of Leuko-
plakiacells of oral mucosa.
J. maxillofac. Surg. 3, 119 - 124
(1975)

PILGRIM, C.,
W. ERB,
W. MAURER

Diurnal fluctuations in the number of
DNA synthesizing nuclei in various mouse
tissues.
Nature 199, 863 - 864
(1963)

PINDBORG J. J.,
O. JÖLST,
G. RENSTRUP,
B. ROED-PETERSEN

Studies in oral Leukoplakia: A preli-
minary Report on the period pervalence
of malignant transformation in Leukopla-
kia based on a follow-up Study of 248
Patients.
J. Americ. Dent. ASS. 767 - 771
(1976)

PRANTL, F.

Vergleichende autoradiographische Unter-
suchungen über die DNS-Synthese der mensch-
lichen Wangenschleimhaut mit besonderer
Berücksichtigung von Leukoplakien und
Präkanzerosen.
Inauguraldissertation Erlangen-Nürnberg
(1977)

RAJEWSKY, M. F.

Thyminidin-Inkorporation und O_2 -Konzentra-
tion in Explantaten normaler und maligner
Gewebe "in vitro".
Naturwissenschaften 52, 341 - 342
(1965)

RAJEWSKY, M. F.

Zellproliferation in normalen und malignen Geweben: 3H -Thyminidin-Einbau in vitro unter Standardbedingungen.
Biophysik 3, 65 - 93
(1966)

- RENSTRUP, G. Studies in oral leukoplakias.
IV. Mitotic Activity in oral leukoplakias.
Acta odontol. scand. 21, 335 - 340
(1963)
- ROED-PETERSEN, B. Cancer development in oral leukoplakia.
Follow-up of 331 patients.
J. Dent. Res. 50, 711
(1971)
- ROLSHOVEN, E. Über die Reifeteilungen bei der Sperma-
togenese mit einer Kritik des bisherigen
Begriffs der Zellteilungen.
Verh. anat. Ges. 49, 189
(1951)
- SHELL, H.,
G. H. SCHMID,
O. P. HORNSTEIN,
H. J. ZEISSLER Untersuchungen über die Tagesperiodik
des ³H-Indexes im Epithel der Wangen-
schleimhaut und in der Rückenepidermis
der männlichen Ratte.
Arch. Derm. Forsch. 250, 253 - 260
(1974)
- SHELL, H.,
H. ROSENBERGER,
O. P. HORNSTEIN,
E. WAWRA Autoradiographic in vitro studies on
diurnal variation in human epidermal cell
proliferation.
Arch. Derm. Res. 257, 265 - 272
(1977)
- SCHILLI, W. Das Verhalten der Zunge bei verkleinertem
Zungenraum. Autoradiographische Untersu-
chungen an der Ratte.
Fortschr. Kieferorthopädie 25, 496 - 474
(1964)

SCHMID, G. H.,
O. P. HORNSTEIN

Autoradiographische in-vitro-Untersuchungen über den Einfluß der Inkubationsdauer auf die DNA-Synthese psoriatischer Epidermiszellen von Stanzbiopsien im Glutamin-freien Nährmedium.
Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 15,
165 - 176
(1974)

SCHMID, G. H.,
H. SCHELL,
O. P. HORNSTEIN,
H. U. MEISEL,
H. J. ZEISSLER

Untersuchungen über die Dauer der DNS-Synthesephase in der Wangenschleimhaut der männlichen Ratte.
I. Vergleich von zwei autoradiographischen Methoden in vivo.
Virch. Arch. B Zellpath. 17, 169 - 175
(1974 a)

SCHMID, G. H.,
H. SCHELL,
O. P. HORNSTEIN,
U. FISCHER,
C. STOSIEK

Untersuchungen über die Dauer der DNS-Synthesephase in der Wangenschleimhaut der männlichen Ratte.
Virch. Arch. B Zellpath. 17, 177 - 184
(1974 b)

SCHMID, G. H.,
O. P. HORNSTEIN,
E. POPP

Autoradiographische Untersuchungen über die DNS-Synthese in der Wangenschleimhaut verschieden alter Ratten.
Arch. Derm. Forsch. 246, 238 - 248
(1973)

SCHUERMANN, H.,
A. GREITHER,
O. P. HORNSTEIN

Krankheiten der Mundschleimhaut und Lippen.
Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien
(1966)

- SCHULTZE, B. Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm.
Habilitationsschrift Würzburg 1967
- SILBERKWEIT, M.,
N. N. SONI,
R. L. HAYES Pattern of mitotic activity and cell densities in the epithelium of inflamed gingiviae of children.
J. dent. Res. 42, 1503 - 1510
(1963)
- SUGAR, L.,
J. BANOCZY Untersuchungen bei Präkanzerosen der Mundschleimhaut.
Dtsch. Zahn-Mund-Kieferkh. 30, 132
(1959)
- SHAFTER, W. G.,
A. A. WALDRON A clinical and histopathological study of oral leukoplakia.
Surg. Gynecol. Obstet. 112, 411 - 420
(1961)
- TURESKY, S.,
I. GLICKMAN,
J. PROVOST A histochemical study of the keratotic process in oral lesions diagnosed clinically as leukoplakia.
Oral Surg. Med. Pathol. 14, 442 - 453
(1961)
- VAN SCOTT, E. J. Reaction patterns of normal and neoplastic epithelium.
In Advances in biology of skin, vol. 7, 75 - 86. Oxford-London-Edinburgh-New York-Toronto-Paris-Braunschweig:
Pergamon Press 1966

WALDRON, A. A.,
W. G. SHAFTER

Leukoplakia revisited. A clinopathologic
of 3256 oral leukoplakias.
Cancer 36, 1386 - 1392
(1975)

WALKER, D. M.,
A. E. DOLBY

Labelling index in the mucosal lesions of
lichen planus.
Brit. J. Derm. 91, 549 - 556
(1974)

WHO COLLABORATING
CENTRE FOR ORAL PRE-
CANCEROUS LESIONS

Definition of leukoplakia and related
lesions: An aid to studies on oral pre-
cancer.
Oral Surg. 46, 518 - 539
(1978)

WIMBER, D. E.

Methods for studying cell proliferation
with emphasis on DNA labells.
In Cell Proliferation, L. F. Lamerton and
R.J.M. Fry (eds.), Blackwell Scientific,
Oxford, 1 - 17
(1963)

WRBA, H.,
H. RABES,
K. F. MERKER,
P. DOERR

Zur Bedeutung des O₂-Partialdruckes für
die quantitative Bestimmung des Einbaus
von radioaktiv markierten Verbindungen in
Organexplantaten.
Exp. Cell. Res. 45, 167 - 177
(1966)

Lebenslauf

Name: K i r z i n g e r

Vorname: Thomas

Geburtstag: 21.12.1953

Geburtsort: Amberg

Name des Vaters: Franz-Xaver Kirzinger

Name der Mutter: Judith Kirzinger

Schulbildung: Volksschule von Sept. 1960 bis Juli 1962
in Amberg und von Sept. 1962 bis Juli 1964
in Regensburg
Gymnasium von Sept. 1964 bis Juni 1973
in Regensburg

Schulabschluß: Reifeprüfung am 8.6.1973

Studium: Universität Freiburg i. Br.
vom WS 1973/74 bis SS 1975
Universität Erlangen-Nürnberg
vom WS 1975/76 bis SS 1978
Universität Würzburg
vom WS 1978/79 bis WS 1979/80

Studienziel: Medizin. Staatsexamen nach dem WS 1979/80

Copy - Center 2000
852 ERLANGEN · Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197